I841551

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I841551 B**

(45)公告日： 中華民國 113 (2024) 年 05 月 11 日

(21)申請案號：108107979 (22)申請日： 中華民國 108 (2019) 年 03 月 11 日

(51)Int. Cl.： ***C07K16/28 (2006.01)*** ***C07K16/30 (2006.01)***
C07K16/32 (2006.01) ***C07K16/40 (2006.01)***
A61K39/00 (2006.01)

(30)優先權：2018/03/13 歐洲專利局 18161340.7

(71)申請人：瑞士商赫孚孟拉羅股份公司 (瑞士) F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (CH)
瑞士

(72)發明人：克勞斯　克莉絲汀娜 CLAUS, CHRISTINA (DE)；伏拉拉　寇勒　克勞蒂亞 FERRARA KOLLER, CLAUDIA (CH)；克雷恩　克里斯俊 KLEIN, CHRISTIAN (DE)；山姆　喬翰尼斯 SAM, JOHANNES (DE)；優瑪那　帕伯羅 UMANA, PABLO (CR)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

TW 201629094A CN 102753195A

審查人員：吳姵諄

申請專利範圍項數：17 項 圖式數：5 共 318 頁

(54)名稱

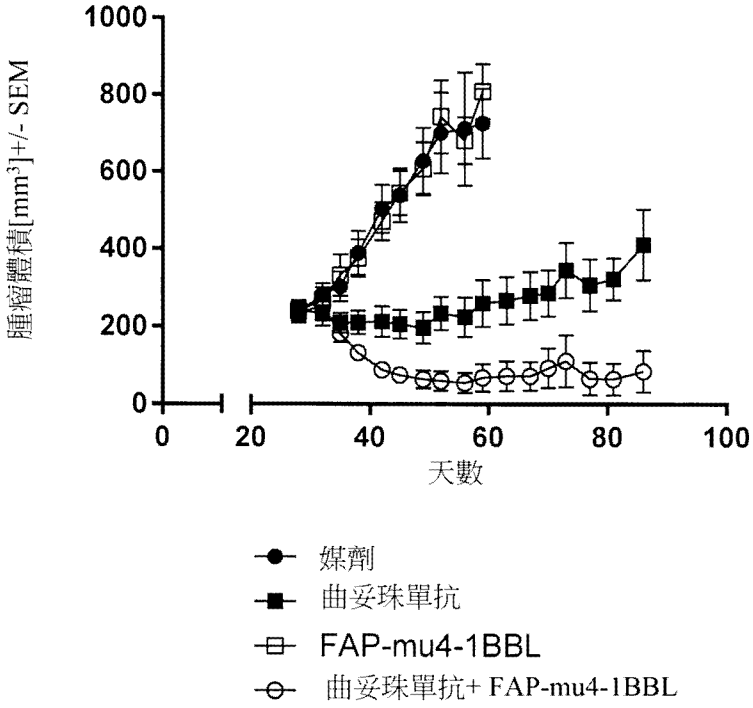
使用靶向 4-1BB (CD137)之促效劑的組合療法

(57)摘要

本發明係關於組合療法，其採用與 HER-2 靶向劑組合之 4-1BB (CD137)促效劑，特定言之含有抗原結合分子的 4-1BBL 三聚體；此等組合療法用於治療癌症的用途；及使用該等組合療法的方法。

The present invention relates to combination therapies employing 4-1BB (CD137) agonists, in particular 4-1BBL trimer containing antigen binding molecules, in combination with HER-2 targeting agents, the use of these combination therapies for the treatment of cancer, and methods of using the combination therapies.

指定代表圖：


腫瘤體積[mm³]+/- SEM
1000
800
600
400
200
0
0
20
40
60
80
100
天數
媒劑
曲妥珠單抗
FAP-mu4-1BBL
曲妥珠單抗+ FAP-mu4-1BBL

【圖5A】

公告本

I841551

【發明摘要】

【中文發明名稱】

使用靶向4-1BB (CD137)之促效劑的組合療法

【英文發明名稱】

COMBINATION THERAPY WITH TARGETED 4-1BB (CD137) AGONISTS

【中文】

本發明係關於組合療法，其採用與HER-2靶向劑組合之4-1BB (CD137)促效劑，特定言之含有抗原結合分子的4-1BBL三聚體；此等組合療法用於治療癌症的用途；及使用該等組合療法的方法。

【英文】

The present invention relates to combination therapies employing 4-1BB (CD137) agonists, in particular 4-1BBL trimer containing antigen binding molecules, in combination with HER-2 targeting agents, the use of these combination therapies for the treatment of cancer, and methods of using the combination therapies.

【指定代表圖】

圖5A

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

使用靶向4-1BB (CD137)之促效劑的組合療法

【英文發明名稱】

COMBINATION THERAPY WITH TARGETED 4-1BB (CD137) AGONISTS

【技術領域】

【0001】 本發明係關於組合療法，其採用4-1BB (CD137)促效劑(特定言之含有抗原結合分子之4-1BBL三聚體)及HER-2靶向劑；及此等組合療法用於治療癌症的用途；以及使用該等組合療法的方法。

【先前技術】

【0002】 癌症為世界範圍內死亡之主要原因之一。儘管在治療選擇方面有所進展，但患有晚期癌症的患者之預後仍然較差。因此，對於增加癌症患者之存活期而不引起不可接受之毒性的最佳療法存在持久且緊急的醫療需要。最近臨床試驗結果已顯示，免疫療法可延長癌症患者之總存活期，且引起持久反應。不管此等有前景的結果如何，當前基於免疫之療法僅對一部分患者有效，且需要組合策略來改良治療效益。

【0003】 人類表皮生長因子受體-2 (HER-2；ErbB2)為受體酪胺酸激酶及跨膜受體之表皮生長因子受體(EGFR)家族之成員。HER-2在一系列腫瘤類型中過表達，且已涉及疾病發生及進展。此與較差預後相關聯。舉例而言，在大致30%之人類乳癌中觀測到HER-2之過表達，且其涉及侵襲性生長及與此等腫瘤相關之較差臨床結果(Slamon等人(1987) Science 235:177-182)。

【0004】人類化之抗HER-2單株抗體曲妥珠單抗(CAS 180288-69-1，HERCEPTIN®，huMAb4D5-8，rhuMAb HER2，Genentech)靶向HER-2之胞外域(US 5677171；US 5821337；US 6054297；US 6165464；US 6339142；US 6407213；US 6639055；US 6719971；US 6800738；US 7074404；Coussens等人(1985) Science 230:1 132-9；Slamon等人(1989) Science 244:707-12；Slamon等人(2001) New Engl. J. Med. 344:783-792)。已顯示曲妥珠單抗抑制過表達HER-2之人類腫瘤細胞的增殖，且為抗體依賴性細胞毒性ADCC的介體(Hudziak等人(1989) Mol Cell Biol 9:1 165-72；Lewis等人(1993) Cancer Immunol Immunother; 37:255-63；Baselga等人(1998) Cancer Res. 58:2825-2831；Hotaling等人(1996) [摘要]. Proc. Annual Meeting Am Assoc Cancer Res; 37:471；Pegram MD等人(1997) [摘要]. Proc Am Assoc Cancer Res; 38:602；Sliwkowski等人(1999) Seminars in Oncology 26(4), 增刊12:60- 70；Yarden Y.及Sliwkowski, M. (2001) Nature Reviews: Molecular Cell Biology, Macmillan Magazines, Ltd., 第2卷:127-137)。

【0005】在1998年，批准HERCEPTIN® (曲妥珠單抗，Genentech Inc.)用於治療患有過度表現HER2之轉移性乳癌的患者(Baselga等人(1996) J. Clin. Oncol. 14:737-744)。在2006年，FDA批准HERCEPTIN®作為含有小紅莓、環磷醯胺及太平洋紫杉醇之治療方案之一部分，用於輔助治療患有HER2陽性、結節陽性乳癌之患者。

【0006】曲妥珠單抗-MCC-DM1 (T-DM1、曲妥珠單抗恩他新、曲妥珠單抗-恩他新偶聯物，KADCYLA®)，一種用於治療HER2陽性乳癌

之新穎抗體-藥物結合物(ADC)，由在離胺酸側鏈處經由MCC連接子與曲妥珠單抗結合的細胞毒性劑DM1(含硫醇類美登素(maytansinoid)抗微管藥劑)構成，其中平均藥物負荷(藥物與抗體比率)為約3.5。在與表現於腫瘤細胞上之HER2結合之後，T-DM1進行受體介導之內化，引起胞內釋放含有DM1之細胞毒性分解代謝物，且隨後細胞死亡。在2013年，FDA批准在商品名KADCYLA®下出售之曲妥珠單抗-恩他新偶聯物，用於治療先前接受用曲妥珠單抗及紫杉烷治療之患有HER2陽性、轉移性乳癌的患者。

【0007】帕妥珠單抗(亦稱為重組人類化單株抗體2C4、rhuMAb 2C4、PERJETA®，Genentech, Inc, South San Francisco)為靶向HER-2之另一抗體治療。帕妥珠單抗為HER二聚化抑制劑(HDI)，且作用於抑制HER2之能力以與其他HER受體(諸如EGFR/HER1、HER2、HER3及HER4)形成活性雜二聚體或同二聚體。參見例如Harari及Yarden Oncogene 19:6102-14 (2000)；Yarden及Sliwkowski. Nat Rev Mol Cell Biol 2:127-37 (2001)；Sliwkowski Nat Struct Biol 10:158-9 (2003)；Cho等人Nature 421:756-60 (2003)；及Malik等人Pro Am Soc Cancer Res 44:176-7 (2003)；US 7560111。在2012年，首先批准PERJETA®與曲妥珠單抗及多烯紫杉醇組合用於治療患有晚期或後期(轉移性) HER2陽性乳癌之患者。同時，亦批准使用曲妥珠單抗及帕妥珠單抗之組合療法，用於新輔助(手術前)治療HER2陽性、局部晚期、發炎性或初期乳癌，及用於輔助(手術後)治療處於高復發風險下之HER2陽性早期乳癌(EBC)。認為帕傑它(Perjeta)及賀癌平(Herceptin)之作用機制係彼此互補的，此係由於兩者均與HER2受體結合，但結合於不同位置。認為帕傑它及賀癌平之

組合提供對HER信號傳導路徑之更全面的雙重阻斷，因此預防腫瘤細胞生長及存活。

【0008】 針對人類ErbB2之域II、III及IV之雙特異性二價HER-2抗體，揭示於WO 2012/143523中。包含抗體rhuMab 2C4及hu4D5之最佳化變體之雙特異性HER-2抗體(稱為Herceptarg)，已描述於WO 2015/091738中。

【0009】 儘管充分證實了曲妥珠單抗在乳癌中之治療功效，但因為抗性仍有許多患者不能自曲妥珠單抗獲益。鑒於缺乏在表現低水準之HER2之特定癌症中的有效抗HER2療法、對目前療法之抗性及HER-2相關癌症的發病率，需要新療法來治療此類癌症。

【0010】 4-1BB (CD137) (TNF受體超家族之成員)首先經鑑別為由經活化T細胞表現之誘導性分子(Kwon及Weissman, 1989, Proc Natl Acad Sci USA *86*, 1963-1967)。後續研究表明，許多其他免疫細胞亦表現4-1BB，包括NK細胞、B細胞、NKT細胞、單核球、嗜中性白血球、肥大細胞、樹突狀細胞(DC)及非造血源之細胞(諸如內皮細胞及平滑肌細胞)(Vinay及Kwon, 2011, Cell Mol Immunol *8*, 281-284)。4-1BB在不同細胞類型中之表現主要為誘導性的，且由各種刺激信號驅動，諸如T細胞受體(TCR)或B細胞受體觸發，以及經由促炎性細胞介素之共刺激分子或受體誘導的信號傳導(Diehl等人, 2002, J Immunol *168*, 3755-3762；Zhang等人, 2010, Clin Cancer Res *13*, 2758-2767)。

【0011】 已於1993年鑑別4-1BB配體(4-1BBL或CD137L)(Goodwin等人, 1993, Eur J Immunol *23*, 2631-2641)。已顯示，4-1BBL之表現限定於專職抗原呈現細胞(APC)上，諸如B細胞、DC及巨噬細胞。

4-1BBL之誘導性表現為T細胞(包括αβ及γδ T細胞子集兩者)及內皮細胞之特徵(Shao及Schwarz, 2011, J Leukoc Biol *89*, 21-29)。

【0012】 經由4-1BB受體(例如藉由4-1BBL連接)之共刺激活化T細胞(CD4$^+$及CD8$^+$子集兩者)內之多個信號級聯，從而大大加強T細胞活化(Bartkowiak及Curran, 2015)。與TCR觸發組合，促效4-1BB特異性抗體增強T細胞之增殖、刺激淋巴激素分泌及降低T淋巴球對活化誘導之細胞死亡的靈敏度(Snell等人, 2011, Immunol Rev *244*, 197-217)。此機制在癌症免疫療法中作為第一概念驗證而進一步經推進。在臨床前模型中，抗-4-1BB之促效抗體在攜帶腫瘤小鼠中之投與引起強效抗腫瘤效果(Melero等人, 1997, Nat Med *3*, 682-685)。之後，累積證據指示，4-1BB通常僅在與其他免疫調節化合物、化學治療藥劑、腫瘤特異性接種疫苗或放射線療法組合投與時，展現其作為抗腫瘤劑之效能(Bartkowiak及Curran, 2015, Front Oncol *5*, 117)。

【0013】 TNFR超家族之信號傳導需要三聚配體之交聯以與受體接合，需要野生型Fc結合之4-1BB促效抗體同樣如此(Li及Ravetch, 2011, Science *333*, 1030-1034)。然而，全身性投與具有功能活性Fc域之4-1BB特異性促效抗體引起與肝毒性相關的CD8$^+$ T細胞之流入(Dubrot等人, 2010, Cancer Immunol Immunother *59*, 1223-1233)，此在小鼠體內無功能性Fc受體存在下減弱或顯著改善。在臨床中，Fc勝任型4-1BB促效Ab (BMS-663513) (NCT00612664)引起導致試驗終止的4級肝炎(Simeone及Ascierto, 2012, J Immunotoxicol *9*, 241-247)。因此，需要有效且更安全的4-1BB促效劑。

【0014】 已製備出由一個4-1BB配體胞外域及單鏈抗體片段(Hornig

等人, 2012, J Immunother *35*, 418-429; Müller等人, 2008, J Immunother *31*, 714-722)或與重鏈之C端融合的單一4-1BB配體(Zhang等人, 2007, Clin Cancer Res *13*, 2758-2767)構成的融合蛋白。WO 2010/010051揭示由彼此連接且與抗體部分融合之三個TNF配體胞外域組成的融合蛋白之產生。在本發明中，顯示由三聚合且因此生物活性的4-1BB配體及對腫瘤相關抗原具特異性之抗原結合域以及Fc無活性域構成的抗原結合分子，尤其穩定且穩固。對於腫瘤，顯示經由4-1BB (CD137)分子之特異性共刺激尤其適用，該分子包含靶向腫瘤基質中之FAP之抗原結合域及4-1BB配體之三聚體，下文稱為FAP-4-1BBL。藉由FAP靶向特異性交聯，FAP抗原結合域代替特定言之在肝中負責Fc介導的毒性的非特異性FcγR介導的交聯，因此降低毒性風險。

【0015】 在本文中，吾人描述一種針對表現HER-2之腫瘤的新穎組合療法。

【發明內容】

【0016】 本發明係關於4-1BB (CD137)促效劑，特定言之含有抗原結合分子之4-1BBL三聚體；及其與HER-2靶向療法組合之用途，尤其係關於其在用於治療癌症或延遲癌症之進展的方法中的用途。已發現，本文中所描述之組合療法在抑制腫瘤生長及消除腫瘤細胞上比用單獨4-1BB促效劑或已知HER-2靶向療法更有效。

【0017】 在一些態樣中，本發明提供一種用於治療癌症或延遲癌症之進展之方法中的4-1BB (CD137)促效劑，其中該4-1BB促效劑與HER-2靶向劑組合使用，且其中該4-1BB促效劑為包含能夠與腫瘤相關抗原特異性結合之至少一個抗原結合域的抗原結合分子。

【0018】在一些態樣中，該HER-2靶向劑包含HER-2抗體、雙特異性HER-2抗體及/或HER-2抗體藥物結合物。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑係選自由以下組成之群：曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新之組合。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含選自由以下組成之群的HER-2抗體：曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及馬戈妥昔單抗(margetuximab)。在一個態樣中，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗或帕妥珠單抗。更特定言之，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗。在一些態樣中，HER-2靶向劑為經糖基工程改造之HER-2抗體，例如TrasGex。在一些態樣中，HER-2靶向劑為雙特異性HER-2抗體，例如Herceptarg。在一些態樣中，HER-2靶向劑為HER-2抗體藥物結合物，特定言之曲妥珠單抗恩他新(曲妥珠單抗-恩他新偶聯物)。

【0019】在一些態樣中，4-1BB促效劑包含三個4-1BBL胞外域或其片段。在一些態樣中，4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段之分子，且其中該等4-1BBL胞外域包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8，特定言之SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 5的胺基酸序列。

【0020】在其他態樣中，4-1BB促效劑為包含能夠與腫瘤相關抗原特異性結合之至少一個抗原結合域的抗原結合分子。在一些態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或

其片段及能夠與腫瘤相關抗原特異性結合之至少一個抗原結合域。在一個態樣中，腫瘤相關抗原選自由纖維母細胞活化蛋白(FAP)及CEA組成之群。

【0021】 在其他態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含IgG Fc域，具體言之IgG1 Fc域或IgG4 Fc域。在一些態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含含有降低與Fc受體結合及/或效應功能之一或多個胺基酸取代的Fc域。在一特定態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含有降低Fcγ受體結合及/或效應功能之修飾的Fc域。藉由腫瘤相關抗原之交聯使得有可能避免非特異性FcγR介導之交聯，且因此可投與相較於普通4-1BB抗體更高且更有效劑量之4-1BB促效劑。

【0022】 在一些態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與纖維母細胞活化蛋白(FAP)特異性結合之至少一個抗原結合域。在一些態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，其中能夠與FAP特異性結合之抗原結合域包含：

(a)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列，或

(b)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。

【0023】 在另一態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，其中能夠與FAP特異性結合之該抗原結合域包含含有SEQ ID NO: 21之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，或其中能夠與FAP特異性結合之該抗原結合域包含含有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)。

【0024】 在一些態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，及

(b)藉由二硫鍵彼此連接之第一及第二多肽，其中該第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接之兩個4-1BBL胞外域或其片段，且其中該第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段。在一些態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個Fab域，該至少一個Fab域包含含有SEQ ID NO: 21之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，或含有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及

含有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)；及(b)藉由二硫鍵彼此連接之第一及第二多肽，其中該抗原結合分子之特徵在於，該第一多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31及SEQ ID NO: 32，且在於該第二多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8。

【0025】 在另一態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：含有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列的第一重鏈，含有SEQ ID NO: 42之胺基酸序列的第一輕鏈，含有SEQ ID NO: 43之胺基酸序列的第二重鏈，及含有SEQ ID NO: 44之胺基酸序列的第二輕鏈。

【0026】 在一些態樣中，4-1BB促效劑為抗-FAP/抗-4-1BB雙特異性抗體。

【0027】 在另一態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域。在一些態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域，其中能夠與CEA特異性結合之該抗原結合域包含：(a)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序

列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 38之胺基酸序列。

【0028】 在另一態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域，其中能夠與CEA特異性結合之該抗原結合域包含含有SEQ ID NO: 39之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HCEA)及含有SEQ ID NO: 40之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LCEA)。

【0029】 在另一態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接的兩個4-1BBL胞外域或其片段，且其中該第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段。

【0030】 在一些態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個Fab域，該至少一個Fab域包含：重鏈可變區(V_HCEA)，其包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於，該第一多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31及SEQ ID NO: 32，且在於該第二多肽包含選自由以下組成之群的胺基

酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8。

【0031】 在另一態樣中，4-1BB促效劑為抗CEA/抗-4-1BB雙特異性抗體。

【0032】 在其他態樣中，4-1BB促效劑及HER-2靶向劑以單一組合物形式一起投與，或以兩種或更多種不同組合物形式分開投與。在其他態樣中，4-1BB促效劑與HER-2靶向劑協同作用。在其他態樣中，4-1BB促效劑與HER-2靶向劑同時、在其之前或之後投與。

【0033】 在其他態樣中，提供一種組合，其包含4-1BB促效劑及HER-2靶向劑。在一個態樣中，該組合用作藥物，其中4-1BB促效劑及HER-2靶向劑係同時投與。在其他態樣中，該組合用作藥物，其中4-1BB促效劑及HER-2靶向劑係依序投與。

【0034】 在另一態樣中，提供一種醫藥產品，其包含：(A)第一組合物，其包含作為活性成分之4-1BB促效劑及醫藥學上可接受之載劑；及(B)第二組合物，其包含作為活性成分之HER-2靶向劑及醫藥學上可接受之載劑，該等組合物組合、依序或同時使用以治療疾病，特定言之癌症。

【0035】 在另一態樣中，提供一種醫藥組合物，其包含4-1BB促效劑及HER-2靶向劑。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑係選自由以下組成之群：曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新之組合。在其他態樣中，提供一種醫藥組合物，其用於治療癌症或延遲癌症之進展，特定言之用於治療晚期及/或轉移性實體腫瘤。

【0036】 在另一態樣中，本發明係關於一種4-1BB促效劑及HER-2靶向劑之組合之用途，其用於製造用於治療增殖性疾病(特定言之癌症)或延遲增殖性疾病之進展的藥物。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑係選自由以下組成之群：曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新之組合。

【0037】 在另一態樣中，本發明提供一種用於治療個體之癌症或延遲個體之癌症之進展的方法，其包含向該個體投與有效量的4-1BB促效劑及有效量的HER-2靶向劑。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑係選自由以下組成之群：曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新之組合。

【0038】 在一些態樣中，本發明係關於一種用於治療個體之癌症或延遲個體之癌症之進展的方法，其包含向該個體投與有效量的4-1BB促效劑及有效量的HER-2靶向劑，其中該4-1BB促效劑包含三個4-1BBL胞外域或其片段。在一些態樣中，4-1BB促效劑為本文提供之任何4-1BB促效劑。在一些態樣中，4-1BB促效劑及HER-2靶向劑以單一組合物形式一起投與，或以兩種或更多種不同組合物形式分開投與。在一些態樣中，4-1BB促效劑及HER-2靶向劑係經靜脈內或皮下投與。在一些態樣中，4-1BB促效劑與HER-2靶向劑同時、在其之前或之後投與。

【0039】 在其他態樣中，本發明係關於一種與HER-2靶向劑組合之

4-1BB促效劑或醫藥組合物，其用於治療癌症或延遲癌症之進展；一種4-1BB促效劑及HER-2靶向劑之組合的用途，其用於製造用於治療增殖性疾病(特定言之癌症)或延遲增殖性疾病之進展的藥物；或一種用於治療個體之癌症或延遲個體之癌症之進展的方法，其中該癌症為HER-2陽性癌症。在一些態樣中，該癌症為乳癌、卵巢癌、胃癌(stomach cancer)、胃癌(gastric cancer)、食道癌、肺癌、子宮癌、唾液管癌、膀胱癌、子宮內膜癌、胰臟癌、結腸癌、前列腺癌及/或頭頸癌。

【圖式簡單說明】

【0040】

圖1顯示特定FAP-4-1BBL抗原結合分子。此等分子更詳細地描述於實例1中。粗黑點表示杵-臼修飾。圖1A顯示一價FAP 4-1BBL三聚體，其含有在鄰近於4-1BBL二聚體及4-1BBL單體之CH1及CL域中具有修飾的抗原結合分子。由於其包含FAP結合子4B9，故其在本文中稱為單FAP(4B9)-4-1BBL。圖1B顯示具有結合子FAP(4B9)之二價構築體，被稱為二FAP(4B9)-4-1BBL。圖1C及圖1D顯示非靶向對照分子(FAP結合子已經非結合DP47 Fab置換)。

圖2A及**圖2B**分別顯示混合替代物FAP-mu4-1BBL (分析物1)與固定的鼠類4-1BB及人類FAP或鼠類FAP (分析物2)之同步結合。**圖2C**顯示鼠類雙特異性FAP-4-1BB抗體muFAP-4-1BB (分析物1)與固定的鼠類4-1BB及鼠類FAP (分析物2)之同步結合。

圖3顯示如實例4中所描述的在C57BL/6小鼠中單一注射之後的muFAP-4-1BB之藥物動力學概況。觀察到穩定PK行為，其表明可以每週一次之時程投與化合物。

圖4A及**圖4B**顯示如實例5中所描述的huCD16TgScid小鼠之處理時程及處理組。

圖5A顯示如在用單獨曲妥珠單抗、單獨混合FAP-mu4-1BBL或兩者之組合處理之小鼠中所觀測到的腫瘤生長動力學(平均值+/- SEM)。在**圖5B**(對照組)、**圖5C**(用單獨曲妥珠單抗處理)、**圖5D**(用單獨FAP-mu4-1BBL處理)及**圖5E**(用組合處理)中，顯示所有處理組之每一動物的個別腫瘤生長動力學。指示研究終止時之無腫瘤小鼠的數目。

【實施方式】

【0041】

定義

除非以其他方式定義，否則本文所用之技術及科學術語具有與本發明所屬領域中通常所使用相同之含義。出於解釋本說明書之目的，將應用以下定義且只要合適，以單數形式使用之術語亦將包括複數形式且反之亦然。

【0042】 如本文所用，術語「**抗原結合分子**」在其最廣泛的意義上係指特異性結合抗原決定子的分子。抗原結合分子之實例為抗體、抗體片段及骨架抗原結合蛋白。

【0043】 術語「**抗體**」在本文中以最廣泛意義使用且涵蓋各種抗體結構，包括(但不限於)單株抗體、多株抗體、單特異性及多特異性抗體(例如雙特異性抗體)及抗體片段，只要其展現所需抗原結合活性即可。

【0044】 如本文所用，術語「**單株抗體**」係指自實質上均質抗體之群體獲得的抗體，亦即包含該群體之個別抗體相同及/或結合相同抗原決定基，除例如含有天然存在之突變或在單株抗體製備生產期間產生之可能

變體抗體以外，此類變體一般以少量存在。與典型地包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體的多株抗體製劑相比，單株抗體製劑中之各單株抗體係針對抗原上之單一決定子。

【0045】 如本文所用，術語「**單特異性**」抗體表示具有一或多個結合位點之抗體，該一或多個結合位點中之每一者與相同抗原之相同抗原決定基結合。術語「**雙特異性**」意謂，抗原結合分子能夠與至少兩個不同的抗原決定子特異性結合。典型地，雙特異性抗原結合分子包含兩個抗原結合位點，其中之每一者對不同抗原性決定子具有特異性。在某些實施例中，雙特異性抗原結合分子能夠同時結合兩個抗原決定子，特定言之表現於兩個不同細胞上的兩個抗原決定子。

【0046】 如本申請案中所使用之術語「**價**」表示抗原結合分子中存在指定數目之結合位點。同樣，術語「二價」、「四價」及「六價」分別表示抗原結合分子中存在兩個結合位點、四個結合位點及六個結合位點。

【0047】 術語「全長抗體」、「完整抗體」及「完全抗體」在本文中可互換使用，其係指具有與原生抗體結構實質上類似之結構的抗體。「**原生抗體**」係指具有不同結構之天然存在之免疫球蛋白分子。舉例而言，原生IgG類抗體為約150,000道爾頓(dalton)之雜四聚體醣蛋白，其由二硫鍵鍵合之兩條輕鏈及兩條重鏈構成。自N端至C端，各重鏈具有可變區(VH)，亦稱為可變重鏈域或重鏈可變域，之後為三個恆定域(CH1、CH2及CH3)，亦稱為重鏈恆定區。類似地，自N端至C端，各輕鏈具有可變區(VL)，亦稱為可變輕鏈域或輕鏈可變域，之後為輕鏈恆定域(CL)，亦稱為輕鏈恆定區。抗體之重鏈可歸為五種類型中之一種，該五種類型稱為α (IgA)、δ (IgD)、ε (IgE)、γ (IgG)或μ (IgM)，其中一些可進一步分成子

類型，例如γ1 (IgG1)、γ2 (IgG2)、γ3 (IgG3)、γ4 (IgG4)、α1 (IgA1)及α2 (IgA2)。抗體之輕鏈可基於其恆定域之胺基酸序列歸為兩種類型中之一種，稱為κ (kappa)及λ (lambda)。

【0048】「**抗體片段**」係指不同於完整抗體，包含完整抗體之結合完整抗體所結合之抗原之部分的分子。抗體片段之實例包括(但不限於)Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、$F(ab')_2$；雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、互換Fab片段；線性抗體；單鏈抗體分子(例如scFv)；及單域抗體。關於某些抗體片段之綜述，參見Hudson等人, Nat Med 9, 129-134 (2003)。關於scFv片段之綜述，參見例如Plückthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 第113卷, Rosenburg及Moore編, Springer-Verlag, NewYork, 第269-315頁 (1994)；亦參見WO93/16185；及美國專利第5,571,894號及第5,587,458號。關於包含救助受體結合抗原決定基殘基及具有增加之活體內半衰期之Fab及$F(ab')_2$片段的論述，參見美國專利第5,869,046號。雙功能抗體為具有兩個抗原結合位點之抗體片段，其可為二價或雙特異性的，參見例如EP 404,097；WO 1993/01161；Hudson等人, Nat Med 9, 129-134 (2003)；及Hollinger等人, Proc Natl Acad Sci USA 90, 6444-6448 (1993)。三功能抗體及四功能抗體亦描述於Hudson等人, Nat Med 9, 129-134 (2003)中。單域抗體為包含抗體之重鏈可變域之全部或一部分或輕鏈可變域之全部或一部分的抗體片段。在某些實施例中，單域抗體為人類單域抗體(Domantis, Inc., Waltham, MA；參見例如美國專利第6,248,516B1號)。抗體片段可藉由各種技術來製備，包括(但不限於)如本文所描述之對完整抗體之蛋白水解消化以及藉由重組宿主細胞(例如大腸桿菌(E. coli)或噬菌體)生產。

【0049】 對完整抗體之番木瓜蛋白酶消化產生兩個相同的抗原結合片段，稱為「Fab」片段，其各自含有重鏈及輕鏈可變域以及輕鏈之恆定域及重鏈之第一恆定域(CH1)。如本文所用，因此，術語「**Fab片段**」係指包含含有輕鏈之VL域及恆定域(CL)之輕鏈片段，及重鏈之VH域及第一恆定域(CH1)的抗體片段。Fab'片段與Fab片段之不同之處在於，在包括一或多個來自抗體鉸鏈區之半胱胺酸之重鏈CH1域的羧基端處添加幾個殘基。Fab'-SH為其中恆定域之半胱胺酸殘基帶有游離硫醇基之Fab'片段。胃蛋白酶處理產生$F(ab')_2$片段，其具有兩個抗原結合位點(兩個Fab片段)及Fc區之一部分。

【0050】 術語「**互換Fab片段**」或「xFab片段」或「互換型Fab片段」係指其中重鏈及輕鏈之可變區或恆定區互換之Fab片段。互換型Fab分子之兩種不同鏈組成係可能的且包含於本發明之雙特異性抗體中：一方面，Fab重鏈及輕鏈之可變區經互換，亦即交換型Fab分子包含由輕鏈可變區(VL)及重鏈恆定區(CH1)構成的肽鏈，及由重鏈可變區(VH)及輕鏈恆定區(CL)構成的肽鏈。此互換型Fab分子亦稱為互換Fab $_{(VLVH)}$。另一方面，當Fab重鏈及輕鏈之恆定區互換時，互換型Fab分子包含由重鏈可變區(VH)及輕鏈恆定區(CL)組成的肽鏈，及由輕鏈可變區(VL)及重鏈恆定區(CH1)組成的肽鏈。此互換型Fab分子亦稱為互換Fab $_{(CLCH1)}$。

【0051】 「單鏈Fab片段」或「**scFab**」為由抗體重鏈可變域(VH)、抗體恆定域1 (CH1)、抗體輕鏈可變域(VL)、抗體輕鏈恆定域(CL)及連接子組成之多肽，其中該等抗體域及該連接子按N端至C端方向之次序具有以下中之一者：a) VH-CH1-連接子-VL-CL，b) VL-CL-連接子-VH-CH1，c) VH-CL-連接子-VL-CH1或d) VL-CH1-連接子-VH-CL；且

其中該連接子為至少30個胺基酸，較佳32與50個胺基酸之間的多肽。該等單鏈Fab片段經由CL域與CH1域之間的天然二硫鍵穩定化。另外，此等單鏈Fab分子可藉由經由插入半胱胺酸殘基(例如根據Kabat編號，可變重鏈中之位置44及可變輕鏈中之位置100)而產生鏈間二硫鍵來進一步穩定化。

【0052】「互換型單鏈Fab片段」或「**x-scFab**」為由抗體重鏈可變域(VH)、抗體恆定域1 (CH1)、抗體輕鏈可變域(VL)、抗體輕鏈恆定域(CL)及連接子組成之多肽，其中該等抗體域及該連接子按N端至C端方向之次序具有以下中之一者：a) VH-CL-linker-VL-CH1及b)VL-CH1-連接子-VH-CL；其中VH及VL一起形成與抗原特異性結合的抗原結合位點，且其中該連接子為至少30個胺基酸的多肽。另外，此等x-scFab分子可藉由經由插入半胱胺酸殘基(例如根據Kabat編號，可變重鏈中之位置44及可變輕鏈中之位置100)而產生鏈間二硫鍵來進一步穩定化。

【0053】「**單鏈可變片段(scFv)**」為抗體之重鏈(V_H)及輕鏈(V_L)之可變區的融合蛋白，其與具有十至約25個胺基酸之短連接肽連接。連接子通常富含甘胺酸以具有可撓性，以及絲胺酸或蘇胺酸以具有可溶性，且可使V_H之N端與V_L之C端連接，或反之亦然。儘管移除恆定區且引入連接子，但此蛋白質保留初始抗體之特異性。scFv抗體例如描述於Houston, J.S., Methods in Enzymol. 203 (1991) 46-96)中。另外，抗體片段包含單鏈多肽，其具有VH域(亦即能夠與VL域一起組裝成功能性抗原結合位點)或VL域(亦即能夠與VH域一起組裝成功能性抗原結合位點)之特徵，且因此提供全長抗體之抗原結合特性。

【0054】「**骨架抗原結合蛋白**」在此項技術中已知，例如纖維結合

蛋白及經設計錨蛋白重複蛋白質(DARPins)已用作抗原結合域之替代骨架，參見例如Gebauer及Skerra, Engineered protein scaffolds as next-generation antibody therapeutics. Curr Opin Chem Biol 13:245-255 (2009)及Stumpp等人, Darpins: A new generation of protein therapeutics. Drug Discovery Today 13: 695-701 (2008)。在本發明之一個態樣中，骨架抗原結合蛋白係選自由以下組成之群：CTLA-4 (艾維伯迪(Evibody))，脂質運載蛋白(抗運載蛋白)，蛋白A衍生之分子(諸如蛋白A之Z域(親和抗體)、A域(高親和性多聚體/最大抗體))，血清運鐵蛋白(反式體)；經設計之錨蛋白重複蛋白質(DARPin)，抗體輕鏈或重鏈之可變域(單域抗體，sdAb)，抗體重鏈之可變域(奈米抗體，aVH)，V_{NAR}片段，纖維結合蛋白(阿德奈汀(AdNectin))，C型凝集素域(四連接素)；新型抗原受體β-內醯胺酶之可變域(V_{NAR}片段)，人類γ-晶狀體球蛋白或泛蛋白(阿菲林(Affilin)分子)；人類蛋白酶抑制劑之kunitz型域，微體(諸如來自knottin家族之蛋白質)，肽適體及纖維結合蛋白(阿德奈汀)。

【0055】 脂質運載蛋白為胞外蛋白質之家族，其轉運小型疏水性分子，諸如類固醇、後色膽素、類視黃素及脂質。其具有剛性β-片狀第二結構，其在圓錐結構之開放端具有許多環，其可經工程改造以與不同靶抗原結合。抗運載蛋白之大小在160-180個胺基酸之間，且衍生於脂質運載蛋白。關於其他細節，參見Biochim Biophys Acta 1482: 337-350 (2000)、US7250297B1及US20070224633。

【0056】 經設計之錨蛋白重複蛋白質(DARPins)衍生於錨蛋白，其為介導整合膜蛋白質與細胞骨架之連接的蛋白質家族。單一錨蛋白重複為由兩個α螺旋及β旋轉(beta-turn)組成之33殘基基元。其可藉由隨機化各重

複之第一個α螺旋及β旋轉中之殘基而經工程改造為結合不同靶抗原。可藉由增加模組數目來增加其結合界面(親和力成熟方法)。關於其他細節，參見J. Mol. Biol. 332, 489-503 (2003), PNAS 100(4), 1700-1705 (2003)及J. Mol. Biol. 369, 1015-1028 (2007)以及US20040132028A1。

【0057】 單域抗體為由單一單體可變抗體域組成之抗體片段。第一個單域來源於來自駱駝之抗體重鏈之可變域(奈米抗體或V_HH片段)。此外，術語單域抗體包括自主人類重鏈可變域(aVH)或來源於鯊魚之V_{NAR}片段。

【0058】 至於參考分子，「**與相同抗原決定基結合之抗原結合分子**」係指一種抗原結合分子，其在競爭分析中阻斷參考分子與其抗原之結合達50%或更多，且相反，參考分子在競爭分析中阻斷抗原結合分子與其抗原之結合達50%或更多。

【0059】 術語「**抗原結合域**」係指抗原結合分子之一部分，其包含與抗原之一部分或全部特異性結合且與其互補之區域。當抗原較大時，抗原結合分子可僅與抗原之特定部分結合，該部分稱為抗原決定基。抗原結合域可由例如一或多個可變域(亦稱為可變區)提供。較佳地，抗原結合域包含抗體輕鏈可變區(VL)及抗體重鏈可變區(VH)。

【0060】 如本文所用，術語「**抗原決定子**」與「抗原」及「抗原決定基」同義，且係指多肽大分子上與抗原結合部分結合，形成抗原結合部分-抗原複合物的位點(例如連續胺基酸區段或由非連續胺基酸之不同區域構成的構形組態)。適用的抗原決定子可發現於例如腫瘤細胞表面上、病毒感染細胞表面上、其他病變細胞表面上、免疫細胞表面上、游離於血清中及/或胞外基質(ECM)中。除非另外指示，否則在本文中適用作抗原之

蛋白質可以為來自任何脊椎動物來源，包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠)的任何原生形式之蛋白質。在一特定實施例中，抗原為人類蛋白質。在本文中提及特定蛋白質的情況下，該術語涵蓋「全長」未加工蛋白質，以及由細胞中之加工所產生的任何蛋白質形式。該術語亦涵蓋天然存在之蛋白質變體，例如剪接變體或等位基因變體。

【0061】「**特異性結合**」意謂，結合對於抗原而言具選擇性且可與非所需或非特異性相互作用區分。抗原結合分子與特定抗原結合之能力可經由酶聯結免疫吸附分析(ELISA)或熟習此項技術者熟悉之其他技術，例如表面電漿子共振(SPR)技術(在BIAcore儀器上分析) (Liljeblad等人, Glyco J 17, 323-329 (2000))及傳統結合分析(Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002))量測。在一個實施例中，抗原結合分子與無關蛋白質之結合程度，小於抗原結合分子與抗原之結合的約10%，如例如藉由SPR所量測。在某些實施例中，與抗原結合之分子具有≤ 1 μM、≤ 100 nM、≤ 10 nM、≤ 1 nM、≤ 0.1 nM、≤ 0.01 nM或≤ 0.001 nM (例如10^{-8} M或更少，例如10^{-8} M至10^{-13} M，例如10^{-9} M至10^{-13} M)之解離常數(Kd)。

【0062】「**親和力**」或「結合親和力」係指分子(例如抗體)之單一結合位點與其結合搭配物(例如抗原)之間的非共價相互作用總強度。除非另外指示，否則如本文所用之「結合親和力」係指反映結合對(例如抗體與抗原)成員之間的1:1相互作用之固有結合親和力。分子X對其搭配物Y之親和力一般可由解離常數(Kd)表示，解離常數為解離速率常數與結合速率常數(分別為koff及kon)之比率。因此，等效親和力可包含不同速率常數，只要速率常數之比率保持相同即可。可藉由此項技術中已知之常見方

法(包括本文所描述之彼等方法)量測親和力。一種用於量測親和力之特定方法為表面電漿子共振(SPR)。

【0063】術語「**腫瘤相關抗原**」意謂由腫瘤細胞高度表現或在腫瘤基質中表現的任何抗原。特定腫瘤相關抗原為CEA或FAP。

【0064】除非另有指示，否則術語「**纖維母細胞活化蛋白質(FAP)**」，亦稱為脯胺醯基內肽酶FAP或Seprase (EC 3.4.21)，係指來自任何脊椎動物來源(包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)、非人類靈長類動物(例如食蟹獼猴)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠))之任何原生FAP。該術語涵蓋「全長」未加工FAP以及由細胞中之加工產生的任何FAP形式。該術語亦涵蓋天然存在之FAP變體，例如剪接變體或等位基因變體。在一個實施例中，本發明之抗原結合分子能夠與人類、小鼠及/或食蟹獼猴FAP特異性結合。人類FAP之胺基酸序列顯示於UniProt (www.uniprot.org)寄存編號Q12884 (版本149，SEQ ID NO: 56)或NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/) RefSeqNP_004451.2中。人類FAP之胞外域(ECD)自胺基酸位置26延伸至胺基酸位置760。His標記之人類FAP ECD之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO: 81中。小鼠FAP之胺基酸序列顯示於UniProt寄存編號P97321 (版本126，SEQ ID NO: 58)或NCBI RefSeq NP_032012.1中。小鼠FAP之胞外域(ECD)自胺基酸位置26延伸至胺基酸位置761。SEQ ID NO: 83顯示His標記之小鼠FAP ECD之胺基酸序列。SEQ ID NO: 84顯示His標記之食蟹獼猴FAP ECD之胺基酸序列。較佳地，本發明之抗-FAP結合分子與FAP之胞外域結合。例示性抗-FAP結合分子描述於國際專利申請案第WO 2012/020006 A2號中。

【0065】除非另外指示，否則術語「**癌胚抗原(CEA)**」，亦稱為癌

胚抗原相關細胞黏附分子5 (CEACAM5)，係指來自任何脊椎動物來源(包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)、非人類靈長類動物(例如食蟹獼猴)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠))之任何原生CEA。人類CEA之胺基酸序列顯示於UniProt寄存編號P06731 (版本151，SEQ ID NO: 61)中。長期將CEA鑑別為腫瘤相關抗原(Gold及Freedman, J Exp Med., 121:439-462, 1965；Berinstein N. L., J Clin Oncol., 20:2197-2207, 2002)。最初歸類為僅表現於胎兒組織中之蛋白質，現今在若干正常成年人組織中鑑別出CEA。此等組織之來源主要為上皮，包括胃腸道、呼吸道及尿道之細胞，及結腸、子宮頸、汗腺及前列腺之細胞(Nap等人, Tumour Biol., 9(2-3):145-53, 1988；Nap等人, Cancer Res., 52(8):2329-23339, 1992)。上皮來源之腫瘤以及其癌轉移含有CEA作為腫瘤相關抗原。儘管存在CEA本身並不指示轉化成癌細胞，但指示CEA之分佈。在正常組織中，CEA通常表現於細胞之頂端表面上(Hammarström S., Semin Cancer Biol. 9(2):67-81 (1999))，使其不可接近血流中之抗體。與正常組織相反，CEA傾向於在癌細胞之整個表面上表現(Hammarström S., Semin Cancer Biol. 9(2):67-81 (1999))。此表現模式之變化使得CEA可實現癌細胞中之抗體結合。另外，CEA表現在癌細胞中增加。此外，增加之CEA表現促進增加之細胞間黏附，其可引起癌轉移(Marshall J., Semin Oncol., 30(增刊8):30-6, 2003)。多種腫瘤實體中之CEA表現之發生率通常極高。根據公開之資料，組織樣本中進行之自身分析證實其高發生率，在結腸直腸癌(CRC)中為約95%，在胰臟癌中為90%，在胃癌中為80%，在非小細胞肺癌(NSCLC，其中其與HER3共表現)中為60%且在乳癌中為40%；在小細胞肺癌及神經膠母細胞瘤中發現低表現。

【0066】 CEA易於自細胞表面裂解且自腫瘤直接或經由淋巴管進入血流。由於此特性，已使用血清CEA之含量作為用於診斷癌症及篩檢癌症(特定言之結腸直腸癌)復發之臨床標記物(Goldenberg D M., The International Journal of Biological Markers, 7:183-188, 1992；Chau I.等人, J Clin Oncol., 22:1420-1429, 2004；Flamini等人, Clin Cancer Res; 12(23):6985-6988, 2006)。

【0067】 如本文所用，「**T細胞抗原**」係指呈現於T淋巴球、特定言之細胞毒性T淋巴球之表面上的抗原決定子。

【0068】 如本文所用，「**T細胞活化治療劑**」係指能夠在個體內誘導T細胞活化之治療劑，特定言之經設計用於在個體內誘導T細胞活化的治療劑。

【0069】 如本文所用，「**活化T細胞抗原**」係指由T淋巴球、特定言之細胞毒性T淋巴球表現之抗原決定子，其能夠在與抗原結合分子相互作用時誘導或提高T細胞活化。具體言之，抗原結合分子與活化T細胞抗原的相互作用可藉由觸發T細胞受體複合物之信號級聯來誘導T細胞活化。例示性活化T細胞抗原為CD3。

【0070】 術語「**可變區**」或「可變域」係指抗體重鏈或輕鏈中涉及抗原結合分子與抗原之結合的域。原生抗體之重鏈及輕鏈(分別為VH及VL)可變域通常具有類似的結構，其中各域包含四個保守性構架區(FR)及三個高變區(HVR)。參見例如Kindt等人, Kuby Immunology, 第6版, W.H. Freeman and Co., 第91頁 (2007)。單一VH或VL域可足以賦予抗原結合特異性。

【0071】 如本文所用，術語「**高變區**」或「HVR」係指抗體可變域

中在序列上具有高變性及/或形成結構上定義之環(「高變環」)的各區域。通常，原生四鏈抗體包含六個HVR；三個位於VH中(H1、H2、H3)，且三個位於VL中(L1、L2、L3)。HVR一般包含來自高變環及/或來自「互補決定區」(CDR)的胺基酸殘基，後者具有最高的序列可變性及/或涉及抗原識別。例示性高變環出現在胺基酸殘基26-32 (L1)、50-52 (L2)、91-96 (L3)、26-32 (H1)、53-55 (H2)及96-101 (H3)處。(Chothia及Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917(1987))。例示性CDR (CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3)出現在L1之胺基酸殘基24-34、L2之胺基酸殘基50-56、L3之胺基酸殘基89-97、H1之胺基酸殘基31-35B、H2之胺基酸殘基50-65及H3之胺基酸殘基95-102處。(Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991))。高變區(HVR)亦稱為「互補決定區」(CDR)，且此等術語在本文中、在提及形成抗原結合區之可變區之部分時可互換使用。此特定區域已由Kabat等人, 美國衛生及人群服務部, 「Sequences of Proteins of Immunological Interest」(1983)及由Chothia等人, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)描述，其中當彼此對照比較時，該等定義包括胺基酸殘基之重疊或子集。然而，涉及抗體或其變體之CDR之任何定義的應用意欲處於如本文中所定義及所用之術語的範疇內。涵蓋以上所引用參考文獻中之每一者所定義的CDR的適當胺基酸殘基如下闡述於表A中作為比較。包含特定CDR的精確殘基數目將視CDR序列及大小而變。在抗體之可變區胺基酸序列指定之情況下，熟習此項技術者可以常規方式判定哪些殘基包含特定CDR。

表A. CDR定義[1]

CDR	Kabat	Chothia	AbM[2]
V_H CDR1	31-35	26-32	26-35
V_H CDR2	50-65	52-58	50-58
V_H CDR3	95-102	95-102	95-102
V_L CDR1	24-34	26-32	24-34
V_L CDR2	50-56	50-52	50-56
V_L CDR3	89-97	91-96	89-97

[1] 表A中之所有CDR定義之編號皆依據Kabat等人所闡述之編號慣例(參見下文)。

[2]如表A中所使用之含有小寫字母「b」之「AbM」係指如藉由Oxford Molecular之「AbM」抗體建模軟體所定義的CDR。

【0072】 Kabat等人亦定義適用於任何抗體之可變區序列之編號系統。一般熟習此項技術者可將此「Kabat編號」系統明確地分配給任何可變區序列，而不依賴於超過序列本身的任何實驗資料。如本文所用，「Kabat編號」係指Kabat等人, 美國衛生及人群服務部, 「Sequence of Proteins of Immunological Interest」 (1983)所闡述之編號系統。除非另外說明，否則提及抗體可變區中之特定胺基酸殘基位置的編號係根據Kabat編號系統。

【0073】 除VH中之CDR1以外，CDR通常包含形成高變環之胺基酸殘基。CDR亦包含「特異性決定殘基」或「SDR」，其為接觸抗原之殘基。SDR含於簡稱為-CDR或a-CDR之CDR區域內。例示性a-CDR (a-CDR-L1、a-CDR-L2、a-CDR-L3、a-CDR-H1、a-CDR-H2及a-CDR-H3)出現在L1之胺基酸殘基31-34、L2之胺基酸殘基50-55、L3之胺基酸殘基89-96、H1之胺基酸殘基31-35B、H2之胺基酸殘基50-58及H3之胺基酸殘基95-102處。(參見Almagro及Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008))。除非另外指示，否則在本文中，根據Kabat等人之前述文獻對可

變域中之HVR殘基及其他殘基(例如FR殘基)進行編號。

【0074】 如本文所用，在抗原結合分子(例如抗體)之情形下，術語「**親和力成熟**」係指衍生於參考抗原結合分子(例如藉由突變)之抗原結合分子，其與同參考抗體相同的抗原結合，較佳地同相同的抗原決定基結合；且與參考抗原結合分子相比對抗原具有更高親和力。親和力成熟通常涉及抗原結合分子之一或多個CDR中一或多個胺基酸殘基之修飾。通常，親和力成熟抗原結合分子與同初始參考抗原結合分子相同的抗原決定基結合。

【0075】 「**構架**」或「FR」係指除高變區(HVR)殘基之外的可變域殘基。可變域之FR通常由四個FR域組成：FR1、FR2、FR3及FR4。因此，在VH (或VL)中，HVR及FR序列一般按以下次序呈現：FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

【0076】 出於本文之目的，「**受體人類構架**」為包含衍生於如以下所定義之人類免疫球蛋白構架或人類共同構架之輕鏈可變域(VL)構架或重鏈可變域(VH)構架之胺基酸序列的構架。「衍生於」人類免疫球蛋白構架或人類共同構架之受體人類構架可包含人類免疫球蛋白構架或人類共同構架之相同胺基酸序列，或其可含有胺基酸序列變化。在一些實施例中，胺基酸變化之數目為10個或更少、9個或更少、8個或更少、7個或更少、6個或更少、5個或更少、4個或更少、3個或更少或2個或更少。在一些實施例中，VL受體人類構架與VL人類免疫球蛋白構架序列或人類共同構架序列在序列上一致。

【0077】 術語「**嵌合**」抗體係指重鏈及/或輕鏈之一部分來源於特定來源或物種，同時重鏈及/或輕鏈之其餘部分來源於不同來源或物種之抗

體。

【0078】 抗體之「**類別**」係指其重鏈所具有之恆定域或恆定區的類型。存在五種主要類別之抗體：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，且此等類別中之若干者可進一步分成子類(同型)，例如IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1及IgA_2。對應於不同類別之免疫球蛋白的重鏈恆定域分別稱為α、δ、ε、γ及μ。

【0079】 「**人類化**」抗體係指包含來自非人類HVR之胺基酸殘基及來自人類FR之胺基酸殘基之嵌合抗體。在某些實施例中，人類化抗體將包含至少一個，且通常兩個可變域之實質上全部可變域，其中HVR之全部或實質上全部可變域(例如，CDR)對應於非人類抗體之彼等，且FR之全部或實質上全部對應於人類抗體之彼等。人類化抗體視情況可包含源自人類抗體之抗體恆定區的至少一部分。抗體(例如非人類抗體)之「**人類化形式**」係指已經歷人類化之抗體。本發明涵蓋之「人類化抗體」之其他形式為其中恆定區已經額外修飾或自原始抗體發生變化以產生根據本發明之特性(尤其在C1q結合及/或Fc受體(FcR)結合方面)之彼等抗體。

【0080】 「**人類**」抗體為胺基酸序列對應於由人類或人類細胞產生或來源於利用人類抗體譜系或其他人類抗體編碼序列之非人類來源之抗體之胺基酸序列的抗體。人類抗體之此定義特別排除包含非人類抗原結合殘基之人類化抗體。

【0081】 術語「Fc域」或「**Fc區**」在本文中用於定義抗體重鏈中含有恆定區之至少一部分的C端區。該術語包括原生序列Fc區及變異Fc區。IgG Fc區包含IgG CH2及IgG CH3域。人類IgG Fc區之「CH2域」通常自約位置231處之胺基酸殘基延伸至約位置340處之胺基酸殘基。在一個實

施例中，碳水化合物鏈與CH2域連接。本文中，CH2域可為原生序列CH2域或變異CH2域。「CH3域」包含Fc區中殘基C端至CH2域之延伸段(亦即IgG之約位置341處之胺基酸殘基至約位置447處之胺基酸殘基)。本文中之CH3區可為原生序列CH3域或變異CH3域(例如在其一條鏈中具有引入的「隆凸」(「杵」)及在其另一條鏈中具有對應引入的「凹穴」(「臼」)之CH3域；參見美國專利第5,821,333號，其明確地以引用之方式併入本文中)。此類變異CH3域可用於促進如本文中所描述之兩個非一致抗體重鏈之雜二聚化。在一個實施例中，人類IgG重鏈Fc區自Cys226、或自Pro230延伸至重鏈之羧基端。然而，Fc區之C端離胺酸(Lys447)可存在或可不存在。除非本文另外規定，否則Fc區或恆定區中胺基酸殘基之編號係根據EU編號系統，亦稱為EU索引，如Kabat等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991中所描述。

【0082】「杵-臼」技術描述於例如US 5,731,168；US 7,695,936；Ridgway等人, Prot Eng 9, 617-621 (1996)及Carter, J Immunol Meth 248, 7-15 (2001)中。一般而言，方法涉及在第一多肽之界面處引入隆凸(「杵」)及在第二多肽之界面處引入對應凹穴(「臼」)，使得隆凸可定位於凹穴中以便促進雜二聚體形成且阻礙均二聚體形成。藉由用較大側鏈(例如酪胺酸或色胺酸)置換第一多肽界面中之小胺基酸側鏈來構築隆凸。大小與隆凸相同或類似之補償性凹穴係在第二多肽之界面中藉由用較小胺基酸側鏈(例如丙胺酸或蘇胺酸)置換大胺基酸側鏈來產生。隆凸及凹穴可藉由改變編碼多肽之核酸，例如藉由定點突變誘發或藉由肽合成來製備。在一具體實施例中，杵修飾包含Fc域之兩個次單元中之一者中的胺基酸取

代T366W，且臼修飾包含Fc域之兩個次單元中之另一者中的胺基酸取代T366S、L368A及Y407V。在另一具體實施例中，包含杵修飾之Fc域之次單元另外包含胺基酸取代S354C，且包含臼修飾之Fc域之次單元另外包含胺基酸取代Y349C。引入此等兩個半胱胺酸殘基使得Fc區之兩個次單元之間形成二硫橋鍵，由此進一步穩定二聚體(Carter, J Immunol Methods 248, 7-15 (2001))。

【0083】「與免疫球蛋白之Fc區等效之區」意欲包括免疫球蛋白之Fc區之天然存在之等位基因變體以及具有變化之變體，該等變化產生取代、添加或缺失，但不實質上降低免疫球蛋白介導效應功能(諸如抗體依賴性細胞毒性)之能力。舉例而言，免疫球蛋白之Fc區之N端或C端可缺失一或多個胺基酸而不實質性損失生物功能。此類變體可根據此項技術中已知的一般法則選擇以對活性具有最小影響(參見例如Bowie, J. U.等人, Science 247:1306-10 (1990))。

【0084】術語「**效應功能**」係指可歸因於抗體之Fc區的彼等生物活性，其隨抗體同型而變化。抗體效應功能之實例包括：C1q結合及補體依賴性細胞毒性(CDC)、Fc受體結合、抗體依賴性細胞介導的細胞毒性(ADCC)、抗體依賴性細胞吞噬(ADCP)、細胞介素分泌、免疫複合體介導之抗原呈遞細胞攝入抗原、下調細胞表面受體(例如B細胞受體)及B細胞活化。

【0085】「**活化Fc受體**」為一種Fc受體，其與抗體之Fc區接合之後，引發信號傳導事件，此刺激攜帶受體之細胞執行效應功能。活化Fc受體包括FcγRIIIa (CD16a)、FcγRI (CD64)、FcγRIIa (CD32)及FcαRI (CD89)。特定活化Fc受體為人類FcγRIIIa（參見UniProt寄存編號

P08637，版本141)。

【0086】「**胞外域**」為膜蛋白中延伸至細胞外空間(亦即靶細胞外之空間)的域。胞外域通常為蛋白質中起始與表面之接觸(其引起信號轉導)之部分。因此，如本文所定義之4-1BBL之胞外域係指4-1BBL中延伸至細胞外空間(胞外域)中且亦包括負責三聚化及與對應受體4-1BB結合的較短部分或其片段的部分。因此，術語「4-1BBL之胞外域或其片段」係指4-1BBL中形成細胞外域的胞外域，或係指其仍能夠與受體結合的部分(受體結合域)。

【0087】「**4-1BBL**」或「**4-1BB配體**」或「**CD137L**」為能夠共刺激T細胞之增殖及細胞介素產生的共刺激TNF配體家族成員。TNF家族配體可在與其相應TNF受體相互相用時共刺激TCR信號，且與其受體之相互相用引起TNFR相關因子(TRAF)之募集，其起始引起T細胞活化之信號級聯。4-1BBL為II型跨膜蛋白。已描述具有SEQ ID NO: 62之胺基酸序列之完全或全長4-1BBL在細胞表面上形成三聚體。藉由4-1BBL之胞外域之特異性基元實現三聚體之形成。該等基元在本文中稱為「三聚化區」。人類4-1BBL序列(SEQ ID NO: 63)之胺基酸50-254形成4-1BBL之胞外域，但即使其片段亦能夠形成三聚體。在本發明之具體實施例中，術語「4-1BBL之胞外域或其片段」係指具有選自以下之胺基酸序列的多肽：SEQ ID NO: 4 (人類4-1BBL之胺基酸52-254)、SEQ ID NO: 1 (人類4-1BBL之胺基酸71-254)、SEQ ID NO: 3 (人類4-1BBL之胺基酸80-254)、SEQ ID NO: 2 (人類4-1BBL之胺基酸85-254)、SEQ ID NO: 5 (人類4-1BBL之胺基酸71-248)、SEQ ID NO: 6 (人類4-1BBL之胺基酸85-248)、SEQ ID NO: 7 (人類4-1BBL之胺基酸80-248)及SEQ ID NO: 8(人類4-1BBL之胺

基酸52-248)，胞外域中能夠三聚化之其他片段且亦包括於本文中。

【0088】 除非另外指示，否則如本文所用之術語「**4-1BB**」或「**CD137**」係指來自任何脊椎動物來源(包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠)的任何原生4-1BB。該術語涵蓋「全長」未加工4-1BB以及由細胞中之加工產生的任何4-1BB形式。該術語亦涵蓋天然存在之4-1BB變體，例如剪接變體或等位基因變體。例示性人類4-1BB之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO: 88 (Uniprot寄存編號Q07011)中，例示性鼠類4-1BB之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO: 89 (Uniprot寄存編號P20334)中，且例示性獼猴4-1BB (來自恆河猴)之胺基酸序列顯示於SEQIDNO: 66 (Uniprot寄存編號F6W5G6)中。

【0089】 術語「**抗-4-1BB抗體**」、「抗-4-1BB」、「4-1BB抗體」及「與4-1BB特異性結合之抗體」係指能夠以足夠親和力結合4-1BB以使得抗體在靶向4-1BB時適用作診斷劑及/或治療劑之抗體。在一個實施例中，抗-4-1BB抗體與無關非-4-1BB蛋白之結合程度小於該抗體與4-1BB之結合的約10%，如例如藉由放射免疫分析(RIA)或流式細胞測量術(FACS)所量測。在某些實施例中，與4-1BB結合之抗體具有≤ 1 μM、≤ 100 nM、≤ 10 nM、≤ 1 nM、≤ 0.1 nM、≤ 0.01 nM或≤ 0.001 nM (例如10^{-6} M 或更少，例如10^{-68} M至10^{-13} M，例如10^{-8} M至10^{-10} M)之解離常數(K_D)。

【0090】 術語「**HER-2**」，亦稱為「ErbB2」、「ErbB2受體」或「c-Erb-B2」，係指由細胞中之HER-2前驅蛋白之加工產生的任何原生成熟HER-2。除非另外指示，否則該術語包括來自任何脊椎動物來源，包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類及食蟹獼猴)及嚙齒動物(例如小鼠及

大鼠)之HER-2。該術語亦包括天然存在之HER-2變體，例如剪接變體或等位基因變體。例示性人類HER-2蛋白之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO: 95中。

【0091】 術語「**肽連接子**」係指包含一或多個胺基酸(通常約2至20個胺基酸)的肽。肽連接子在此項技術中已知或描述於本文中。合適的非免疫原性連接肽為例如$(G_4S)_n$、$(SG_4)_n$或$G_4(SG_4)_n$肽連接子，其中「n」一般為介於1與10之間，通常介於2與4之間，特定言之為2之數字，亦即肽選自由以下組成之群：GGGGS (SEQIDNO: 67)、GGGGSGGGGS (SEQIDNO: 68)、SGGGGSGGGG (SEQIDNO: 69)及GGGGSGGGGSGGGG (SEQIDNO: 70)，且亦包括序列GSPGSSSSGS (SEQIDNO: 71)、$(G4S)_3$ (SEQ ID NO: 72)、$(G4S)_4$ (SEQIDNO: 73)、GSGSGSGS (SEQIDNO: 74)、GSGSGNGS (SEQIDNO: 75)、GGSGSGSG (SEQIDNO: 76)、GGSGSG (SEQIDNO: 77)、GGSG (SEQIDNO: 78)、GGSGNGSG (SEQIDNO: 79)、GGNGSGSG (SEQIDNO: 80)以及GGNGSG (SEQIDNO: 81)。備受關注之肽連接子為(G4S) (SEQ ID NO: 67)、$(G_4S)_2$及GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 68)。

【0092】 如本申請案內所用之術語「**胺基酸**」表示天然存在之羧基α-胺基酸之群，其包含丙胺酸(三字母代碼：ala，一字母代碼：A)、精胺酸(arg，R)、天冬醯胺(asn，N)、天冬胺酸(asp，D)、半胱胺酸(cys，C)、麩醯胺酸(gln，Q)、麩胺酸(glu，E)、甘胺酸(gly，G)、組胺酸(his，H)、異白胺酸(ile，I)、白胺酸(leu，L)、離胺酸(lys，K)、甲硫胺酸(met，M)、苯丙胺酸(phe，F)、脯胺酸(pro，P)、絲胺酸(ser，S)、蘇胺酸(thr，T)、色胺酸(trp，W)、酪胺酸(tyr，Y)及纈胺酸(val，V)。

【0093】「融合」或「連接」意謂，組分(例如4-1BBL之多肽及胞外域)藉由肽鍵直接連接，或經由一或多個肽連接子連接。

【0094】相對於參考多肽(蛋白質)序列之「**胺基酸序列一致性百分比(%)**」定義為在比對序列且視需要引入間隙以達成最大序列一致性百分比之後，且在不將任何保守性取代視為序列一致性之一部分的情況下，候選序列中與參考多肽序列中之胺基酸殘基一致的胺基酸殘基的百分比。出於測定胺基酸序列一致性百分比之目的之比對可以此項技術內之各種方式達成，例如使用公開可用之電腦軟體，諸如BLAST、BLAST-2、ALIGN. SAWI或Megalign (DNASTAR)軟體。熟習此項技術者可判定適用於比對序列之參數，包括在所比較序列之全長內達成最大比對所需的任何演算法。然而，出於本文之目的，使用序列比較電腦程式ALIGN-2，產生胺基酸序列一致性%值。ALIGN-2序列比較電腦程式由Genentech, Inc.設計，且原始程式碼已在U.S. Copyright Office, Washington D.C., 20559申請用戶文檔，其在此註冊在美國版權註冊第TXU510087號下。ALIGN-2程式可公開獲自Genentech, Inc., South San Francisco, California或可自原始程式碼編輯。ALIGN-2程式經編譯可用於UNIX操作系統，包括數位UNIX V4.0D。所有序列比較參數均由ALIGN-2程式設定且不變化。在使用ALIGN-2進行胺基酸序列比較之情形下，既定胺基酸序列A與既定胺基酸序列B (或者，其可表述為與既定胺基酸序列B具有或包含一定胺基酸序列一致性%的既定胺基酸序列A)之胺基酸序列一致性%如下計算：

100乘以分數X/Y

其中X為在A與B之比對程式中藉由序列比對程程式ALIGN-2評為一致匹配之胺基酸殘基之數目，且其中Y為B中之胺基酸殘基之總數目。應

瞭解，在胺基酸序列A之長度與胺基酸序列B之長度不相等之情況下，A相對於B之胺基酸序列一致性%與B相對於A之胺基酸序列一致性%將不相等。除非另外特定陳述，否則本文所用之所有胺基酸序列一致性%值如緊接前述段落中所描述使用ALIGN-2電腦程式獲得。

【0095】 在某些實施例中，涵蓋本文提供之抗原結合分子之**胺基酸序列變體**。舉例而言，可能需要改良抗原結合分子之結合親和力及/或其他生物特性。抗原結合分子之胺基酸序列變體可藉由將適當修飾引入至編碼分子之核苷酸序列中或藉由肽合成來製備。此類修飾包括例如抗體之胺基酸序列內的殘基缺失及/或插入及/或取代。可進行缺失、插入及取代之任何組合以獲得最終構築體，其限制條件為最終構築體具有所需特徵，例如抗原結合。用於取代型突變誘發之所關注位點包括HVR及構架(FR)。保守性取代提供於表C中標題「較佳取代」下且在下文中參考胺基酸側鏈類別(1)至(6)進一步描述。可將胺基酸置換引入至所關注之分子中，且針對所需活性進行篩選之產物例如保持/改良抗原結合或減少免疫原性，或改良ADCC或CDC。

表B

初始 殘基	例示性 取代	較佳 取代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正白胺酸	Leu
Leu (L)	正白胺酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu

初始 殘基	例示性 取代	較佳 取代
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正白胺酸	Leu

【0096】 胺基酸可根據共有側鏈特性進行分組：

(1)疏水性：正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

(2)中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

(3)酸性：Asp、Glu；

(4)鹼性：His、Lys、Arg；

(5)影響鏈取向之殘基：Gly、Pro；

(6)芳族性：Trp、Tyr、Phe。

【0097】 非保守取代將引起此等類別中之一者之成員換成另一個類別。

【0098】 術語「**胺基酸序列變體**」包括其中在母體抗原結合分子(例如人類化或人類抗體)之一或多個高變區殘基中存在胺基酸取代的實質性變體。一般而言，所選擇之用於進一步研究之所得變體與母體抗原結合分子相比將具有某些生物特性之修飾(例如改良) (例如提高之親和力、降低之免疫原性)及/或將實質上保留母體抗原結合分子之某些生物特性。一種示例性取代型變體為親和力成熟抗體，其可例如使用基於噬菌體呈現之親和力成熟技術(諸如本文所描述之彼等技術)便利地產生。簡言之，一或多個CDR殘基發生突變且變異抗原結合分子呈現於噬菌體上且針對特定生物活性(例如結合親和力)進行篩檢。在某些實施例中，取代、插入或缺失可出現於一或多個CDR內，只要此類改變不實質上降低抗原結合分子結合抗

原之能力即可。舉例而言，不實質上降低結合親和力之保守改變(例如，如本文所提供之保守取代)可以在CDR中進行。一種適用於鑑別可作為突變誘發之靶標之抗體之殘基或區域的方法稱為「丙胺酸掃描突變誘發」，如Cunningham及Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085所描述。在此方法中，鑑別一個或一組靶標殘基(例如，帶電殘基，諸如Arg、Asp、His、Lys及Glu)，且用中性或帶負電胺基酸(例如，丙胺酸或聚丙胺酸)置換以判定抗體與抗原之相互作用是否受影響。可在對初始取代展現功能敏感性之胺基酸位置處引入其他取代。可替代地或另外，抗原-抗原結合分子複合物之晶體結構用以鑑別抗體與抗原之間的接觸點。此類接觸殘基及鄰近殘基可作為取代候選物之靶標或排除在取代候選物之外。可篩檢變體以判定其是否含有所需特性。

【0099】 胺基酸序列插入包括長度在一個殘基至含有一百個或多於一百個殘基之多肽範圍內的胺基端及/或羧基端融合，以及單個或多個胺基酸殘基之序列內插入。末端插入之實例包括具有N端甲硫胺醯基殘基之抗原結合分子。分子之其他插入型變體包括N或C端與多肽之融合，此延長抗原結合分子之血清半衰期。

【0100】 在某些實施例中，本文提供之抗原結合分子經改變以提高或降低抗體經糖基化之程度。可藉由改變胺基酸序列使得產生或移除之一或多個糖基化位點來便利地獲得分子之糖基化變體。在抗原結合分子包含Fc區之情況下，可改變與其連接之碳水化合物。由哺乳動物細胞產生之原生抗體通常包含分支鏈雙觸角寡醣，其一般藉由N鍵與Fc區之CH2域的Asn297連接。參見例如Wright等人 *TIBTECH* 15:26-32 (1997)。寡醣可包括各種碳水化合物，例如甘露糖、N-乙醯基葡糖胺(GlcNAc)、半乳糖

及唾液酸，以及連接至雙觸寡醣結構之「主幹」中之GlcNAc的岩藻糖。在一些實施例中，可對抗原結合分子中之寡醣進行修飾以便產生具有某些改良特性之變體。在一個態樣中，提供具有缺乏與Fc區(直接或間接)連接之岩藻糖之碳水化合物結構的抗原結合分子的變體。此類岩藻糖基化變體可具有改良之ADCC功能，參見例如美國專利公開案第US 2003/0157108號(Presta, L.)或US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。本發明之抗原結合分子之其他變體包括具有平分寡醣之變體，例如其中與Fc區連接之雙觸角寡醣經GlcNAc平分。此類變體可具有降低之岩藻糖基化及/或改良之ADCC功能，參見例如WO 2003/011878 (Jean-Mairet等人)；美國專利第6,602,684號(Umana等人)；及US 2005/0123546 (Umana等人)。亦提供寡醣中之至少一個半乳糖殘基與Fc區連接之抗體變體。該等抗體變體可具有改良之CDC功能且描述於例如WO 1997/30087 (Patel等人)；WO 1998/58964 (Raju, S.)；及WO 1999/22764 (Raju, S.)中。

【0101】 在某些實施例中，可能需要產生本發明之抗原結合分子之**半胱胺酸工程改造的變體**，例如「thioMAb」，其中該分子之一或多個殘基被半胱胺酸殘基取代。在特定實施例中，經取代之殘基存在於分子之可達位點處。藉由用半胱胺酸取代彼等殘基，藉此將反應性硫醇基安置於抗體之可達位點處，且可用於使抗體與其他部分(諸如藥物部分或連接子-藥物部分)結合以產生免疫結合物。在某些實施例中，以下殘基中之任一者或多者可經半胱胺酸取代：輕鏈之V205 (Kabat編號)；重鏈之A118 (EU編號)；及重鏈Fc區之S400 (EU編號)。半胱胺酸工程改造之抗原結合分子可例如美國專利第7,521,541號中所描述產生。

【0102】 在某些態樣中，本文所提供之抗原結合分子可進一步經修

飾以含有為此項技術中已知且可容易獲得之額外非蛋白質部分。適用於抗體之衍生化之部分包括(但不限於)水溶性聚合物。水溶性聚合物之非限制性實例包括(但不限於)聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纖維素、聚葡萄糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啶酮、聚-1,3-二氧雜環戊烷、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/順丁烯二酸酐共聚物、聚胺基酸(均聚物或無規共聚物)及聚葡萄糖或聚(N-乙烯吡咯啶酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚氧化丙烯/氧化乙烯共聚物、聚氧乙烯多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛因其在水中之穩定性而可能在製造中具有優勢。聚合物可具有任何分子量，且可為分支鏈或未分支鏈的。與抗體連接之聚合物的數目可變化，且若連接多於一個聚合物，則聚合物可為相同或不同分子。一般而言，用於衍生化之聚合物之數目及/或類型可基於包括(但不限於)待改良抗體之特定特性或功能、雙特異性抗體衍生物是否將用於限定條件下之療法等考慮因素來判定。在另一態樣中，提供抗體與可藉由暴露於輻射來選擇性地加熱之非蛋白質部分之結合物。在一個實施例中，非蛋白質部分為碳奈米管(Kam, N.W.等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102 (2005) 11600-11605)。輻射可具有任何波長，且包括(但不限於)不損害普通細胞但將非蛋白質部分加熱至殺死抗體-非蛋白質部分近側之細胞之溫度的波長。在另一態樣中，可獲得本文所提供之含4-1BBL抗原結合分子之免疫結合物。「**免疫結合物**」為與一或多個異源分子，包括(但不限於)細胞毒性劑結合之抗體。

【0103】 術語「**聚核苷酸**」係指經分離核酸分子或構築體，例如信使RNA (mRNA)、病毒源性RNA或質體DNA (pDNA)。聚核苷酸可包含習知磷酸二酯鍵或非習知鍵(例如醯胺鍵，諸如肽核酸(PNA)中所發現)。

術語「核酸分子」係指聚核苷酸中存在之任一或多個核酸區段，例如DNA或RNA片段。

【0104】「**經分離**」核酸分子或聚核苷酸意指已自其原生環境中移出的核酸分子、DNA或RNA。舉例而言，出於本發明之目的，編碼載體中所含之多肽的重組聚核苷酸視為經分離的。經分離聚核苷酸的其他實例包括異源宿主細胞中所維持之重組聚核苷酸或溶液中經純化(部分或實質上)之聚核苷酸。經分離聚核苷酸包括通常含有聚核苷酸分子之細胞中所含的聚核苷酸分子，但聚核苷酸分子存在於染色體外或存在於與其天然染色體位置不同之染色體位置處。經分離RNA分子包括本發明之活體內或活體外RNA轉錄物，以及正股及負股形式，及雙股形式。根據本發明之經分離聚核苷酸或核酸進一步包括以合成方式產生之此類分子。另外，聚核苷酸或核酸可為或可包括調節元件，諸如啟動子、核糖體結合位點或轉錄終止子。

【0105】一種核酸或聚核苷酸的核苷酸序列與本發明之參考核苷酸序列具有至少例如95%「一致」，意指該聚核苷酸之核苷酸序列與參考序列一致，但該聚核苷酸序列相對於參考核苷酸序列可每100個核苷酸中包括至多五個點突變。換言之，為了獲得核苷酸序列與參考核苷酸序列至少95%一致的聚核苷酸，參考序列中至多5%的核苷酸可缺失或經另一核苷酸取代，或參考序列中可插入佔參考序列核苷酸總數至多5%的多個核苷酸。參考序列之此等變化可發生於參考核苷酸序列之5'或3'末端位置或此等末端位置之間的任何位置，此等位置個別地散佈於參考序列中之殘基中或參考序列內之一或多個相鄰基團中。實際上，可使用已知電腦程式，諸如上文關於多肽所論述之一者(例如ALIGN-2)，習知地測定任何特定聚核

苷酸序列是否與本發明之核苷酸序列為至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致。

【0106】術語「**表現盒**」係指以重組或合成方式產生之聚核苷酸，其具有容許特定核酸在靶細胞中發生轉錄的一系列特定核酸元件。重組表現盒可併入質體、染色體、粒線體DNA、質體DNA、病毒或核酸片段中。通常，表現載體之重組表現盒部分包括待轉錄之核酸序列及啟動子，以及其他序列。在某些實施例中，本發明之表現盒包含編碼本發明之雙特異性抗原結合分子或其片段的聚核苷酸序列。

【0107】術語「**載體**」或「表現載體」與「表現構築體」同義，且係指用於引入特定基因且引導該基因表現的DNA分子，該DNA分子與該基因在靶細胞中可操作地連接。該術語包括作為自我複製核酸結構之載體以及併入至已引入其之宿主細胞之基因組中的載體。本發明之表現載體包含表現盒。表現載體允許大量的穩定mRNA發生轉錄。一旦表現載體進入靶細胞內，則藉由細胞轉錄及/或轉譯機制產生由該基因編碼的核糖核酸分子或蛋白質。在一個實施例中，本發明之表現載體包含表現盒，該表現盒包含編碼本發明之雙特異性抗原結合分子或其片段的聚核苷酸序列。

【0108】術語「**宿主細胞**」、「宿主細胞株」及「宿主細胞培養物」可互換使用，且係指已引入外源核酸之細胞，包括此類細胞之後代。宿主細胞包括「轉化體」及「經轉化的細胞」，其包括初代轉化細胞及自其衍生之後代(不考慮繼代次數)。後代之核酸含量與母細胞可能不完全相同，但可能含有突變。本文包括針對原始轉化細胞篩檢或選擇具有相同功能或生物活性之突變型後代。宿主細胞為可用於產生本發明之雙特異性抗原結合分子之任何類型的細胞系統。宿主細胞包括培養細胞，例如哺乳動物培

養細胞，諸如CHO細胞、BHK細胞、NS0細胞、SP2/0細胞、YO骨髓瘤細胞、P3X63小鼠骨髓瘤細胞、PER細胞、PER.C6細胞或融合瘤細胞、酵母細胞、昆蟲細胞及植物細胞(僅舉數例)，且亦包括轉殖基因動物、轉殖基因植物或培養植物或動物組織內所含的細胞。

【0109】 藥劑之「**有效量**」係指在所投與之細胞或組織中產生生理變化所需的量。

【0110】 根據本發明之組合療法具有協同效應。兩種化合物之「**協同效應**」係指兩種藥劑之組合之效應大於其個別效應之總和且在統計學上不同於對照物及單一藥物。在另一實施例中，本文中所揭示之組合療法具有相加效應。兩種化合物之「**相加效應**」係指兩種藥劑之組合之效應為其個別效應之總和且在統計學上不同於對照物及單一藥物。

【0111】 藥劑，例如醫藥組合物之「**治療有效量**」係指在劑量及必需時間段下，有效達成所需治療性或防治性結果的量。治療有效量之藥劑例如消除、減少、延遲、最小化或預防疾病之副作用。

【0112】 「**個體**(individual/subject)」為哺乳動物。哺乳動物包括(但不限於)馴養動物(例如牛、羊、貓、狗及馬)、靈長類動物(例如人類及非人類靈長類動物，諸如猴)、兔及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠)。特定言之，個體(individual/subject)為人類。

【0113】 術語「**醫藥組合物**」係指所呈形式允許其中所含活性成分之生物活性有效發揮的製劑，且其不含對調配物將投與之個體具有不可接受毒性之其他組分。

【0114】 「**醫藥學上可接受之載劑**」係指醫藥組合物中之除活性成分之外的對個體無毒的成分。醫藥學上可接受之賦形劑包括(但不限於)緩

衝劑、穩定劑或防腐劑。

【0115】 術語「**藥品說明書**」用以指通常包括於治療性產品之商業包裝中的說明書，其含有關於與使用此類治療性產品有關之適應症、用法、劑量、投藥、組合療法、禁忌症及/或警告的資訊。

【0116】 如本文所用，「**治療**(treatment)」(及其語法變化形式，諸如「治療(treat)」或「治療(treating)」)係指試圖改變所治療個體之自然病程的臨床介入且可出於防治目的或在臨床病理學之病程期間進行。所需治療效果包括(但不限於)預防疾病發生或復發，緩解症狀，減輕疾病之任何直接或間接病理性結果，預防癌轉移，減緩疾病進展速率，改善或緩和疾病病況及緩解或改良預後。在一些實施例中，本發明之分子用於延遲疾病發展或減慢疾病之進展。

【0117】 術語「**癌症**」及「癌性」係指或描述哺乳動物中特徵通常為不受調控之細胞生長之生理學病狀，亦即增殖性疾病，諸如實體腫瘤或黑素瘤。「腫瘤」包含一或多種癌細胞。如本文所用，術語「實體腫瘤」係指通常不含有囊腫或液體區域之異常組織塊。實體腫瘤可為良性或惡性的。癌症之實例包括(但不限於)癌瘤、淋巴瘤、母細胞瘤、肉瘤及白血病或淋巴惡性疾病。更特定而言，此類癌症之實例包括乳癌；鱗狀細胞癌(例如上皮鱗狀細胞癌)；肺癌，包括小細胞肺癌、非小細胞肺癌(「NSCLC」)、肺腺癌及肺鱗狀癌；腹膜癌；肝細胞癌；胃癌，包括胃腸癌；胰臟癌；神經膠母細胞瘤；子宮頸癌；卵巢癌；肝癌；膀胱癌；肝腫瘤；乳癌；結腸癌；直腸癌；結腸直腸癌；子宮內膜癌或子宮癌；唾液腺癌；腎癌；前列腺癌；外陰癌；甲狀腺癌；肝癌；肛門癌；陰莖癌以及頭頸癌。在一較佳實施例中，癌症為乳癌。在另一較佳實施例中，癌症為胃

癌。

【0118】 提及腫瘤或癌症為「階段0」、「階段I」、「階段II」、「階段III」或「階段IV」及此分類中之多種子階段，指示使用此項技術中已知之總體階段分組或羅馬數字分級方法，對腫瘤或癌症的分類。儘管癌症之實際階段視癌症類型而定，一般而言，階段0癌症為原位病變，階段I癌症為小的局部腫瘤，階段II及III癌症為呈現涉及局部淋巴結之局部晚期腫瘤，且階段IV癌症表示轉移癌。各腫瘤類型之特定階段為熟習臨床醫師已知的。

【0119】 術語「**轉移性乳癌**」意謂乳癌狀態，其中藉由血管或淋巴管，癌細胞自初始位點傳輸至體內一或多個其他位點，在除乳房以外之一或多個器官中形成一或多個繼發性腫瘤。

【0120】 「晚期」癌症為藉由局部侵襲或癌轉移已在起始位點或器官之外部擴散的癌症。因此，術語「晚期」癌症包括局部晚期及轉移性疾病兩者。「難治性」癌症為即使向癌症患者投與抗腫瘤劑(諸如化療)，仍進展的癌症。難治性癌症之實例為鉑難治性癌症。「復發性」癌症為在對初始治療，諸如手術起反應後，在初始位點或遠距離位點處已再生長的癌症。「局部復發性」癌症為治療後在與先前經治療的癌症相同的位置處再出現的癌症。「可手術」或「可切除」癌症為被限制於初始器官且適合於手術(切除)的癌症。「不可切除」或「不可切除性」癌症不能夠藉由手術移除(切除)。

【0121】 「呈現HER表現、擴增或活化」之癌症或生物樣本為，在診斷性測試中，表現(包括過表現) HER受體，擴增HER基因及/或另外表現HER受體之活化或磷酸化的癌症或生物樣本。

【0122】術語「HER-2陽性」及「表現HER-2」在本文中互換使用。「HER-2陽性」癌症包含具有高於正常HER-2水準之癌細胞。HER-2陽性癌症之實例包括HER-2陽性乳癌及HER2陽性胃癌。視情況，HER2陽性為過度表現HER-2之癌症，且在某些實施例中，HER-2陽性癌症具有2+或3+之免疫組織化學(HC)評分及/或≥2.0之原位雜交(ISH)擴增比率。

【0123】使用與螢光、發色或銀偵測系統(亦即，FISH、CISH或SISH)、或CISH與SISH系統(亮場雙重ISH (BDISH)或雙重半抗原、雙色ISH (DDISH))之組合偶聯之DNA探針，原位雜交(ISH)測定*her2*複本的數目。可使用僅計數*her2*複本/細胞核之單一探針，或根據其中染色體17著絲點探針(染色體計數探針17，CEP17)之雜交允許測定*her2*:CEP17比率的雙探針技術，來進行ISH。可根據雙色技術，用同一載玻片上之兩個探針之共雜交，或根據在依序載玻片上使用各探針之單色分析，來進行雙探針方法。*her2*:CEP17比率有時被視為對*her2*擴增狀態而非平均*her2*複本數的較佳反映，此係由於後者亦視其他參數而定，諸如腫瘤之有絲分裂指數、切片厚度、細胞核截短效果及異常染色體複本數(異倍體)。片語「原位雜交(ISH)擴增比率≥2.0」係指*her2*:CEP17比率≥2.0。關於其他細節，參見例如Sauter G等人 Guidelines for human epidermal growth factor receptor 2 testing: biologic and methodologic considerations. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1323-1333，及Hanna等人之綜述文章*Modern Pathology* (2014) 27, 4-18。

【0124】在本文中，「患者」或「個體」為人類患者。患者可為「癌症患者」，亦即罹患癌症(特定言之胃癌或乳癌)之一或多個症狀或處於罹患該癌症之一或多個症狀之風險下的患者。

【0125】「**患者群體**」係指一群癌症患者。此類群體可用於顯示藥物(諸如帕妥珠單抗)之統計學上顯著功效及/或安全性。「復發」患者為在緩解之後具有癌症之跡象或症狀的患者。視情況，患者在輔助或新輔助療法之後復發。

【0126】「**新輔助療法**」或「手術前療法」在本文中係指在手術之前給予之療法。新輔助療法之目標是為了提供即刻全身性治療，潛在地根除當遵循標準手術順序隨後全身性療法時將另外增殖之微小轉移灶。新輔助療法亦可幫助減小腫瘤大小，從而允許完全切除最初不可切除性腫瘤或保存器官之部分及其功能。此外，新輔助療法准許活體內評定藥物功效，其可指導選擇隨後治療。

【0127】「**輔助療法**」在本文中係指在其中不能偵測到殘餘疾病之跡象之決定性手術之後給予，以便降低疾病復發之風險的療法。輔助療法之目標是為了預防癌症復發，且因此降低癌症相關死亡之機率。本文中之輔助療法特別排除新輔助療法。

【0128】「**化學療法**」係指使用適用於治療癌症之化學治療劑。

【0129】「**化學治療劑**」為與作用機制無關之適用於治療癌症的化合物。化學治療劑之類別包括(但不限於)：烷基化劑、抗代謝物、紡錘體毒素植物鹼、細胞毒性/抗腫瘤抗生素、拓樸異構酶抑制劑、抗體、光敏劑及激酶抑制劑。

【0130】除非另外指示，否則術語「**CD20**」係指B淋巴球抗原CD20，亦稱為B淋巴球表面抗原B1或白血球表面抗原Leu-16，且包括來自任何脊椎動物來源(包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)、非人類靈長類動物(例如食蟹獼猴)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠))之任何原生

CD20。人類CD20之胺基酸序列顯示於Uniprot寄存編號P11836 (版本149，SEQ ID NO: 85)中。CD20為表現於前B及成熟B淋巴球上之分子量為大致35 kD的疏水性跨膜蛋白。對應的人類基因為膜跨越4域，子族A，成員1，亦稱為MS4A1。此基因編碼膜跨越4A基因家族之一員。此初生蛋白家族之成員之特徵為常見結構特徵及類似的內含子/外顯子剪接界限且在造血細胞及非淋巴組織中呈現獨特的表現模式。此基因編碼B淋巴球表面分子，其在B細胞發育且分化為漿細胞之過程中發揮作用。在家族成員之叢集中，此家族成員侷限於11q12。此基因之替代性剪接產生編碼相同蛋白質之兩個轉錄變體。術語「CD20」涵蓋「全長」的未加工CD20以及由細胞中之加工產生的任何CD20形式。該術語亦涵蓋天然存在之CD20變體，例如剪接變體或等位基因變體。

【0131】 術語「**抗-CD20抗體**」及「與CD20結合之抗體」係指能夠以足夠親和力結合CD20以使得該抗體適用作靶向CD20之診斷劑及/或治療劑之抗體。在一個實施例中，抗-CD20抗體與無關非CD20蛋白之結合程度小於該抗體與CD20之結合的約10%，如例如藉由放射免疫分析(RIA)所量測。在某些實施例中，與CD20結合之抗體具有≤ 1 μM、≤ 100 nM、≤ 10 nM、≤ 1 nM、≤ 0.1 nM、≤ 0.01 nM或≤ 0.001 nM (例如10^{-8} M或更少，例如10^{-8} M至10^{-13} M，例如10^{-9} M至10^{-13} M)之解離常數(Kd)。在某些實施例中，抗-CD20抗體與在來自不同物種之CD20中保守的CD20抗原決定基結合。

【0132】 「**II型抗-CD20抗體**」意謂如Cragg等人, Blood 103 (2004) 2738-2743；Cragg等人, Blood 101 (2003) 1045-1052，Klein等人, mAbs 5 (2013), 22-33中所描述的具有II型抗-CD20抗體之結合特性及

生物活性的抗-CD20抗體。II型抗-CD20抗體與CD20上之II類抗原決定基結合，其不使CD20定位於脂筏，顯示ADCC活性但低CDC (若其為IgG1同型抗體)，相較於與I類CD20抗原決定基結合之抗體，具有與B細胞之較低結合力，顯示同型聚集及強死亡誘導。II型抗-CD20抗體之實例包括例如奧濱尤妥珠單抗(obinutuzumab；GA101)、托斯圖單抗(tositumumab；B1)、人類化B-Ly1抗體IgG1 (揭示於WO 2005/044859中之嵌合人類化IgG1抗體)、11B8 IgG1 (揭示於WO 2004/035607中)及AT80 IgG1。在一特定態樣中，II型抗-CD20抗體為奧濱尤妥珠單抗(INN, WHO Drug Information, 第26卷, 第4期, 2012,第453頁所推薦)。如本文中所用，奧濱尤妥珠單抗為GA101之同物異名。商品名為GAZYVA®或GAZYVARO®。此置換所有先前版本(例如，第25卷,第1期, 2011,第75-76頁)且以前被稱為阿夫妥珠單抗(afutuzumab) (INN, WHO Drug Information, 第23卷, 第2期, 2009, 第176頁; 第22卷, 第2期, 2008, 第124頁所推薦)。在一個態樣中，II型抗-CD20抗體為托西莫單抗(tositumomab)。

【0133】

用於本發明中之例示性4-1BB促效劑

本發明係關於4-1BB促效劑及其與HER-2靶向療法組合之用途，特定言之，其在用於治療癌症或延遲癌症之進展之方法中的用途。在一些實施例中，4-1BB促效劑及其與HER-2靶向療法組合之用途係用於治療實體腫瘤或延遲實體腫瘤之進展之方法中。

【0134】特定言之，如與HER-2靶向療法組合所使用之4-1BB促效劑為包含4-1BBL之分子。特定言之，用於本發明之4-1BB促效劑包含三

個4-1BBL胞外域或其片段。

【0135】 在一特定態樣中，4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段之分子，且其中該等4-1BBL胞外域包含選自由以下組成之群D胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8，特定言之SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 5的胺基酸序列。

【0136】 當4-1BB促效劑包含對腫瘤相關抗原(特定言之對癌細胞上或基質中之靶標)具有特異性之抗原結合域時，其尤其適用。因此，在一特定態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與纖維母細胞活化蛋白(FAP)或CEA特異性結合之至少一個抗原結合域。

【0137】 在另一態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，其中能夠與FAP特異性結合之抗原結合域包含：

(a)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列，或

(b)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列；及輕鏈可變區

(V_LFAP)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。

【0138】 在一特定態樣中，能夠與FAP特異性結合之抗原結合域包含：重鏈可變區(V_HFAP)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。

【0139】 在另一態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，其中能夠與FAP特異性結合之抗原結合域包含：含有SEQ ID NO: 21之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，或其中能夠與FAP特異性結合之抗原結合域包含：含有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)。更特定言之，能夠與FAP特異性結合抗原結合域包含：含有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)。

【0140】 在另一態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子進一步包含由能夠穩定結合之第一及第二次單元構成的Fc域。在一個態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含IgG Fc

域，具體言之IgG1 Fc域或IgG4 Fc域。特定言之，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含含有降低與Fc受體之結合及/或效應功能的一或多個胺基酸取代的Fc域。在一特定態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含含有胺基酸取代L234A、L235A及P329G之IgG1 Fc域。

【0141】 在一個態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接的兩個4-1BBL胞外域或其片段，且其中該第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段。

【0142】 在一特定態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個Fab域，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於：

(i)分別地，第一多肽含有CH1或CL域及第二多肽含有CL或CH1域，其中第二多肽藉由CH1域與CL域之間的二硫鍵與第一多肽連接，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與CH1或CL域連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之CL或CH1域連接，或

(ii)分別地，第一多肽含有CH3域及第二多肽含有CH3域，且其中第

一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與CH3域之C端連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該一個胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之CH3域之C端連接，或

(iii)分別地，該第一多肽含有VH-CL或VL-CH1域及該第二多肽含有VL-CH1域或VH-CL域，其中該第二多肽藉由CH1域與CL域之間的二硫鍵與第一多肽連接，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與VH或VL連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之VL或VH連接。

【0143】 在另一態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個Fab域，該至少一個Fab域包含：含有SEQ ID NO: 21之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，或含有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於，該第一多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31及SEQ ID NO: 32，且在於該第二多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO:

4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8。

【0144】 在一特定態樣中，4-1BB促效劑為選自由以下組成之群的抗原結合分子：

a)分子，其包含含有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列的第一重鏈、含有SEQ ID NO: 42之胺基酸序列的第一輕鏈、含有SEQ ID NO: 43之胺基酸序列的第二重鏈及含有SEQ ID NO: 44之胺基酸序列的第二輕鏈；及

b)分子，其包含含有SEQ ID NO: 45之胺基酸序列的第一重鏈、含有SEQ ID NO: 46之胺基酸序列的第一輕鏈、含有SEQ ID NO: 47之胺基酸序列的第二重鏈及含有SEQ ID NO: 48之胺基酸序列的第二輕鏈。

【0145】 特定言之，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：含有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列的第一重鏈、含有SEQ ID NO:42之胺基酸序列的第一輕鏈、含有SEQ ID NO: 43之胺基酸序列的第二重鏈及含有SEQ ID NO: 44之胺基酸序列的第二輕鏈。

【0146】 在另一態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽。

【0147】 在一個態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽，及

(c)由能夠穩定結合之第一及第二次單元構成之Fc域，其中包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽視情況經由肽連接子與Fc域之兩個次單元中之一者的N端或C端胺基酸融合。

【0148】 特定雙特異性抗體描述於PCT公開案第WO 2016/075278 A1號中或PCT公開案第WO 2016/156291A1號中。

【0149】 在另一態樣中，4-1BB促效劑為抗-FAP/抗-4-1BB雙特異性抗體。

【0150】 在另一態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域，其中能夠與CEA特異性結合之抗原結合域包含：重鏈可變區(V_HCEA)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 38之胺基酸序列。

【0151】 在另一態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域，其中能夠與CEA特異性結合之抗原結合域包含：含有SEQ ID NO: 39之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HCEA)及含有SEQ ID NO: 40之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LCEA)。

【0152】 在另一態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子進一步包含由能夠穩定結合之第一及第二次單元構成的Fc域。在一

個態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含IgG Fc域，具體言之IgG1 Fc域或IgG4 Fc域。特定言之，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含含有降低與Fc受體之結合及/或效應功能的一或多個胺基酸取代的Fc域。在一特定態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含含有胺基酸取代L234A、L235A及P329G之IgG1 Fc域。

【0153】 在一個態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接的兩個4-1BBL胞外域或其片段，且其中該第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段。

【0154】 在一特定態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個Fab域，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於：

(i)分別地，第一多肽含有CH1或CL域及第二多肽含有CL或CH1域，其中第二多肽藉由CH1域與CL域之間的二硫鍵與第一多肽連接，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與CH1或CL域連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之CL或CH1域連接，或

(ii)分別地，第一多肽含有CH3域及第二多肽含有CH3域，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與CH3域之C端連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該一個胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之CH3域之C端連接，或

(iii)分別地，該第一多肽含有VH-CL或VL-CH1域及該第二多肽含有VL-CH1域或VH-CL域，其中該第二多肽藉由CH1域與CL域之間的二硫鍵與第一多肽連接，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與VH或VL連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之VL或VH連接。

【0155】 在另一態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個Fab域，該至少一個Fab域包含：重鏈可變區(V_HCEA)，其包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於，該第一多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31及SEQ ID NO: 32，且在於該第二多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8。

【0156】在一特定態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：含有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列的第一重鏈、含有SEQ ID NO: 42之胺基酸序列的第一輕鏈、含有SEQ ID NO: 82之胺基酸序列的第二重鏈及含有SEQ ID NO: 83之胺基酸序列的第二輕鏈。

【0157】在另一態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽。

【0158】在一個態樣中，4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽，及

(c)由能夠穩定結合之第一及第二次單元構成之Fc域，其中包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽視情況經由肽連接子與Fc域之兩個次單元中之一者的N端或C端胺基酸融合。

【0159】在另一態樣中，4-1BB促效劑包含抗CEA/抗-4-1BB雙特異性抗體。

【0160】

靶向HER-2之藥劑

在本發明之態樣中，本文所描述之4-1BB促效劑與HER-2靶向療法組合使用。

【0161】在本發明之一些態樣中，4-1BB促效劑與HER-2靶向劑組合使用。在一些實施例中，藥劑與HER-2相互作用。在一些實施例中，藥劑為HER-2拮抗劑。在一些態樣中，該HER-2靶向劑包含HER-2抗體、雙特異性HER-2抗體及/或HER-2抗體藥物結合物。在一些實施例中，藥劑為抗體或抗原結合片段，特定言之抗HER-2抗體。在一些實施例中，藥劑為雙特異性HER-2抗體。在一些實施例中，藥劑為抗體-藥物結合物。

【0162】在一些態樣中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑係選自由以下組成之群：曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新之組合。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含選自由以下組成之群的HER-2抗體：曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及馬戈妥昔單抗。在一個態樣中，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗或帕妥珠單抗。更特定言之，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗。在一些態樣中，HER-2靶向劑為經糖基工程改造之HER-2抗體，例如TrasGex。在一些態樣中，HER-2靶向劑為雙特異性HER-2抗體，例如Herceptarg。在一些態樣中，HER-2靶向劑為HER-2抗體藥物結合物，特定言之曲妥珠單抗恩他新(曲妥珠單抗-恩他新偶聯物)。

【0163】在一些態樣中，HER-2靶向劑包含含有SEQ ID NO: 96之重鏈可變域(VH)及SEQ ID NO: 97之輕鏈可變域(VL)之抗體。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含含有SEQ ID NO: 98之重鏈可變域(VH)及SEQ ID NO: 99之輕鏈可變域(VL)之抗體。

【0164】在一些實施例中，且對於本文所描述之任何用途，藥劑包含曲妥珠單抗(CAS 180288-69-1，HERCEPTIN®，huMAb4D5-8，rhuMAb HER2，Genentech)、帕妥珠單抗(rhuMAb 2C4，PERJETA®，Genentech, Inc, South San Francisco)或曲妥珠單抗恩他新(曲妥珠單抗-MCC-DM1，T-DM1，曲妥珠單抗-恩他新偶聯物，KADCYLA®)。在一些實施例中，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新。在一些實施例中，HER-2靶向劑係選自由以下組成之群：曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及曲妥珠單抗恩他新。在一些實施例中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新之組合或由其組成。在一些實施例中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗及帕妥珠單抗之組合或由其組成。更特定言之，藥劑為曲妥珠單抗。

【0165】曲妥珠單抗為重組DNA源性IgG1 κ單株抗體，其為鼠類抗HER-2抗體(4D5)之人類化版本，其在基於細胞之分析中以高親和力(Kd = 5 nM)選擇性地與HER-2之胞外域結合。曲妥珠單抗為具有鼠類4D5抗體(ATCC CRL 10463，根據布達佩斯條約(Budapest Treaty)，在1990年5月24日，寄存於美國菌種保藏中心，12301 Parklawn Drive, Rockville, Md. 20852)之抗原結合殘基或衍生自該抗體的抗體。例示性人類化4D5抗體包括如US 5821337中之huMAb4D5-1、huMAb4D5-2、huMAb4D5-3、huMAb4D5-4、huMAb4D5-5、huMAb4D5-6、huMAb4D5-7及huMAb4D5-8 (HERCEPTIN®)。

【0166】帕妥珠單抗為基於人類IgG1(K)構架產生之重組人類化單株抗體，參見例如US 7560111。帕妥珠單抗與曲妥珠單抗之不同之處在於，輕鏈(相差12個胺基酸)及重鏈(相差30個胺基酸)之抗原決定基結合

區。由於此等差異，帕妥珠單抗與HER2受體上之完全不同的抗原決定基結合。帕妥珠單抗與人類上皮細胞上之HER2受體之結合，防止其與HER受體家族之其他成員形成複合物(Agus等人, Cancer Cell 2:127-137 (2002))。藉由阻斷複合物形成，帕妥珠單抗防止配體對於複合物(例如，EGF及海瑞古林(heregulin))之生長刺激性效果。

【0167】 曲妥珠單抗恩他新為一種其中曲妥珠單抗經由連接部分MCC與類美登素藥物部分DM1連接的抗體-藥物結合物(US 5208020；US 6441163)。藥物與抗體之比率或藥物負載在1至約8之整數值範圍內。曲妥珠單抗-MCC-DM1包括不同負載及連接的抗體-藥物結合物之所有混合物，其中1、2、3、4、5、6、7及8個藥物部分與抗體曲妥珠單抗共價連接(US 7097840；US 2005/0276812；US 2005/0166993)。平均藥物負荷為約3.5。

【0168】 可以任何組合使用曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及曲妥珠單抗恩他新。在一些實施例中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗及帕妥珠單抗。

【0169】 如本文所用，術語「**HER-2靶向療法**」、「**HER-2靶向劑**」及「**與HER-2相互作用之藥劑**」係指靶向HER-2 (ErbB2)受體酪胺酸激酶之一或多種藥劑。特定言之，該術語係指與HER-2選擇性結合之一或多種藥劑。藥劑可為抗體，特定言之單株抗體。在一些情況下，藥劑以高親和力，例如在nM或pM範圍中，選擇性地與HER-2結合。在一些情況下，藥劑與HER-2受體之胞外域結合。藥劑可引起：下調HER-2受體表現、抑制過表現HER-2蛋白之人類腫瘤細胞之增殖、增強針對過表現HER-2蛋白之腫瘤細胞的免疫募集及ADCC、及/或下調血管生成因子。在一些態樣中，HER-2靶向劑為經糖基工程改造之HER-2抗體，例如TrasGex。在一

些態樣中，HER-2靶向劑為雙特異性HER-2抗體，例如Herceptarg。術語「**抗HER-2抗體**」或「與人類HER-2結合之抗體」或「與人類HER-2特異性結合之抗體」或「拮抗性抗Her2」係指與人類HER-2特異性結合之抗體。抗體可以Kd值為<10 nM、<5 nM、<2 nM、<1 nM、<0.5 nM或更低之結合親和力，結合人類HER-2抗原。結合親和力可使用標準結合分析，諸如表面電漿子共振技術(BIAcore®, GE-Healthcare Uppsala, Sweden)來測定。

【0170】

用於本發明中之雙特異性抗體之製備

在某些態樣中，用於組合中之治療劑包含多特異性抗體，例如雙特異性抗體。多特異性抗體為對至少兩個不同位點具有結合特異性之單株抗體。在某些態樣中，該等結合特異性係針對不同抗原的。在某些態樣中，該等結合特異性係針對相同抗原上之不同抗原決定基。雙特異性抗體可製備為全長抗體或抗體片段。

【0171】 用於製備多特異性抗體之技術包括(但不限於)：具有不同特異性之兩個免疫球蛋白重鏈-輕鏈對之重組共表達(參見Milstein及Cuello, Nature 305: 537 (1983))、WO 93/08829及Traunecker等人, EMBO J. 10: 3655 (1991))，及「杵-臼」工程改造(參見例如美國專利第5,731,168號)。多特異性抗體亦可如下製備：用於製備抗體Fc-雜二聚分子之工程改造靜電導向效應(WO 2009/089004A1)；使兩種或更多種抗體或片段交聯(參見例如美國專利第4,676,980號及Brennan等人, Science, 229: 81 (1985))；使用白胺酸拉鏈產生雙特異性抗體(參見例如Kostelny等人, J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992))；使用用於製備雙特異性抗

體片段之「雙功能抗體」技術(參見例如Hollinger等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993))；及使用單鏈Fv (sFv)二聚體(參見例如Gruber等人, J. Immunol., 152:5368 (1994))；及如例如Tutt等人, J. Immunol. 147: 60 (1991)中所秒述製備三特異性抗體。

【0172】 本文亦包括經工程改造的具有三個或更多個功能性抗原結合位點的抗體(包括「章魚抗體」) (參見例如US 2006/0025576A1)。

【0173】 本文中之抗體或片段亦包括包含與兩個不同抗原結合之抗原結合位點的「雙作用FAb」或「DAF」(參見例如US 2008/0069820)。本文中亦包括「互換單抗(Crossmab)」抗體(參見例如WO 2009/080251、WO 2009/080252、WO2009/080253或WO2009/080254)。

【0174】 用於製備雙特異性抗體片段之另一技術為「雙特異性T細胞接合子」或BiTE®方法(參見例如WO2004/106381、WO2005/061547、WO2007/042261及WO2008/119567)。此方法利用排列於單一多肽上之兩個抗體可變域。舉例而言，單一多肽鏈包括兩個單鏈Fv (scFv)片段，各自具有藉由長度足以允許兩個域之間的分子內結合的多肽連接體分隔的可變重鏈(VH)域及可變輕鏈(VL)域。此單一多肽進一步包含兩個scFv片段之間的多肽間隔序列。各scFv識別不同抗原決定基，且此等抗原決定基可對不同細胞類型具有特異性，以使得當各scFv與其同源抗原決定基接合時兩個不同細胞類型之細胞接近或經繫栓。此方法之一個特定實施例包括識別與另一scFv連接之由免疫細胞表現之細胞表面抗原(例如T細胞上之CD3多肽)的scFv，該另一scFv識別由靶細胞(諸如惡性或腫瘤細胞)表現之細胞表面抗原。

【0175】 由於其為單一多肽，所以可使用此項技術中已知之任何原

核或真核生物細胞表現系統(例如CHO細胞株)，來表現雙特異性T細胞接合子。然而，特定純化技術(參見例如EP1691833)可為將單體雙特異性T細胞接合子與其他多聚物種分離所必需的，該等其他多聚物種可具有除單體之預期活性外之生物活性。在一個例示性純化方案中，首先對含有所分泌多肽之溶液進行金屬親和層析，且用咪唑濃度之梯度溶離多肽。使用陰離子交換層析法進一步純化此溶離液，且使用氯化鈉濃度之梯度溶離多肽。最後，對此溶離液進行尺寸排阻層析法以將單體與多聚物種分離。在一個態樣中，用於本發明中之雙特異性抗體由包含藉由肽連接子彼此融合之兩個單鏈FV片段(scFv)的單一多肽鏈構成。

【0176】

降低Fc受體結合及/或效應功能之Fc域修飾

本發明之抗原結合分子之Fc域由包含免疫球蛋白分子之重鏈域的一對多肽鏈組成。舉例而言，免疫球蛋白G (IgG)分子之Fc域為二聚體，其中各次單元包含CH2及CH3 IgG重鏈恆定域。Fc域之兩個次單元彼此間能夠穩定結合。

【0177】 Fc域賦予本發明之抗原結合分子有利的藥物動力學特性，包括長血清半衰期，其促進靶組織中之良好聚集，及有利的組織-血液分佈率。然而，其同時可引起本發明之雙特異性抗體不合需要地靶向表現Fc受體之細胞而非靶向較佳的攜帶抗原之細胞。因此，在特定態樣中，相較於原生IgG1 Fc域，本發明之抗原結合分子之Fc域呈現與Fc受體之降低結合親和力及/或降低效應功能。在一個態樣中，Fc不實質上與Fc受體結合及/或不誘導效應功能。在一特定態樣中，Fc受體為Fcγ受體。在一個態樣中，Fc受體為人類Fc受體。在一個特定態樣中，Fc受體為活化人類Fcγ受

體，更特定言之，人類FcγRIIIa、FcγRI或FcγRIIa，最特定言之，人類FcγRIIIa。在一個態樣中，Fc域不誘導效應功能。降低之效應功能可包括(但不限於)以下中之一或多者：降低之補體依賴性細胞毒性(CDC)、降低之抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)、降低之抗體依賴性細胞吞噬(ADCP)、降低之細胞介素分泌、降低之免疫複合物介導之抗原呈遞細胞攝入抗原、降低之與NK細胞之結合、降低之與巨噬細胞之結合、降低之與單核球之結合、降低之與多形核細胞之結合、降低之誘導細胞凋亡之直接信號傳導、降低之樹突狀細胞成熟或降低之T細胞活化。

【0178】 在某些態樣中，可將一或多個胺基酸修飾引入至本文所提供之抗體的Fc區中，從而產生Fc區變體。Fc區變體可包含在一或多個胺基酸位置處含有胺基酸修飾(例如取代)之人類Fc區序列(例如，人類IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc區)。

【0179】 在一特定態樣中，本發明提供一種抗體，其中Fc域包含降低與Fc受體、詳言之Fcγ受體之結合的一或多個胺基酸取代。

【0180】 在一個態樣中，本發明之抗體之Fc域包含降低Fc域對Fc受體之結合親和力及/或效應功能的一或多個胺基酸突變。典型地，Fc域之兩個次單元中之每一者中存在相同的一或多個胺基酸突變。特定言之，Fc域在位置E233、L234、L235、N297、P331及P329 (EU編號)處包含胺基酸取代。特定言之，Fc域包含IgG重鏈之位置234及235 (EU編號)及/或329 (EU編號)處的胺基酸取代。更特定言之，提供一種根據本發明之抗體，其包含在IgG重鏈中具有胺基酸取代L234A、L235A及P329G(「P329G LALA」，EU編號)之Fc域。胺基酸取代L234A及L235A係指所謂的LALA突變。胺基酸取代之「P329G LALA」組合幾乎完全消除人類

IgG1 Fc域之Fcγ受體結合且描述於國際專利申請公開案第WO 2012/130831 A1號中，其亦描述製備此類突變型Fc域之方法及測定其特性(諸如Fc受體結合或效應功能)之方法。

【0181】 具有降低之Fc受體結合及/或效應功能之Fc域亦包括具有以下中之一或多者之取代的彼等Fc域：Fc域殘基238、265、269、270、297、327及329 (美國專利第6,737,056號)。此類Fc突變體包括具有胺基酸位置265、269、270、297及327中之兩者或更多者之取代的Fc突變體，包括殘基265及297取代為丙胺酸的所謂「DANA」 Fc突變體(美國專利第7,332,581號)。

【0182】 在另一態樣中，Fc域為IgG4 Fc域。IgG4抗體展現相較於IgG_1抗體，與Fc受體之結合親和力減弱及/或效應功能減低。在一更特定態樣中，Fc域為包含位置S228 (Kabat編號)之胺基酸取代(特定言之，胺基酸取代S228P)的IgG4 Fc域。在一更特定態樣中，Fc域為IgG4 Fc域，其包含胺基酸取代L235E及S228P及P329G (EU編號)。此類IgG4 Fc域突變體及其Fcγ受體結合特性亦描述於WO 2012/130831中。

【0183】 突變型Fc域可使用此項技術中熟知之遺傳學或化學方法，藉由胺基酸缺失、取代、插入或修飾來製備。遺傳學方法可包括編碼DNA序列之位點特異性突變誘發、PCR、基因合成及類似方法。恰當的核苷酸變化可藉由例如定序來驗證。

【0184】 與Fc受體的結合可容易測定，例如藉由ELISA，或藉由表面電漿子共振(SPR)，使用標準儀器，諸如BIAcore儀器(GE Healthcare)，且可諸如藉由重組表現來獲得Fc受體。替代地，Fc域或包含Fc域之細胞活化抗體對於Fc受體之結合親和力可使用已知表現特定Fc

受體之細胞株(諸如表現FcγIIIa受體之人類NK細胞)來評價。

【0185】 Fc域或包含Fc域之本發明之抗體之效應功能可藉由此項技術中已知之方法量測。適用於量測ADCC之分析描述於本文中。用於評定所關注分子之ADCC活性的活體外分析之其他實例描述於美國專利第5,500,362號；Hellstrom等人 Proc Natl Acad Sci USA 83, 7059-7063 (1986)；及Hellstrom等人, Proc Natl Acad Sci USA 82, 1499-1502 (1985)；美國專利第5,821,337號；Bruggemann等人, J Exp Med 166, 1351-1361 (1987)中。替代地，可採用非放射性分析方法(參見例如用於流動式細胞測量術之ACTI™非放射性細胞毒性分析(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA)；及CytoTox 96®非放射性細胞毒性分析(Promega, Madison, WI))。適用於此類分析之效應細胞包括周邊血液單核細胞(PBMC)及自然殺手(NK)細胞。替代地或另外，可以在活體內，例如在動物模型中，諸如Clynes等人, Proc Natl Acad Sci USA 95, 652-656 (1998)中所揭示之動物模型中評定所關注分子之ADCC活性。

【0186】 在一些態樣中，Fc域與補體組分(具體言之C1q)的結合降低。因此，在其中Fc域經工程改造以具有降低之效應功能的一些實施例中，該降低之效應功能包括降低之CDC。可進行C1q結合分析以測定本發明之雙特異性抗體是否能夠結合C1q且因此具有CDC活性。參見例如WO 2006/029879及WO 2005/100402中之C1q及C3c結合ELISA。為了評定補體活化，可執行CDC分析(參見例如Gazzano-Santoro等人, J Immunol Methods 202, 163 (1996)；Cragg等人, Blood 101, 1045-1052 (2003)；及Cragg及Glennie, Blood 103, 2738-2743 (2004))。

【0187】

促進雜二聚化之Fc域修飾

本發明之雙特異性抗原結合分子包含與Fc域之兩個次單元的一個或另一個融合的不同抗原結合位點，因此Fc域之兩個次單元可包含於兩條不相同多肽鏈中。此等多肽之重組共表現及後續二聚化產生兩種多肽之若干種可能的組合。為了提高重組產生中本發明之雙特異性抗體的產量及純度，因此將適宜在本發明之雙特異性抗原結合分子的Fc域中引入促進所要多肽之結合的修飾。

【0188】 因此，在特定態樣中，本發明係關於雙特異性抗原結合分子，其包含：(a)至能夠與腫瘤相關抗原特異性結合之至少一個抗原結合域，(b)藉由二硫鍵彼此連接之第一及第二多肽，其中抗原結合分子之特徵在於第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接的兩個4-1BBL胞外域或其兩個片段，且在於第二多肽包含僅一個該4-1BBL胞外域或其片段，及(c)由能夠穩定結合之第一及第二次單元構成的Fc域，其中Fc域包含促進Fc域之第一及第二次單元之結合的修飾。人類IgG Fc域中之兩個次單元之間的最廣泛蛋白質-蛋白質相互作用的位點位於Fc域之CH3域中。因此，在一個態樣中，該修飾存在於Fc域之CH3域中。

【0189】 在一特定態樣中，該修飾為所謂的「杵-臼」修飾，其包含Fc域之兩個次單元中之一者中的「杵」修飾及Fc域之兩個次單元之另一者中的「臼」修飾。因此，本發明係關於一種抗原結合分子，其包含：(a)能夠與腫瘤相關抗原特異性結合之至少一個抗原結合域，(b)藉由二硫鍵彼此連接之第一及第二多肽，

其中抗原結合分子之特徵在於第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接的兩個4-1BBL胞外域或其兩個片段，且特徵在於第二多肽包含僅一個4-

1BBL胞外域或其片段，及(c)由能夠穩定結合之第一及第二次單元構成的Fc域，其中根據杵-臼方法，Fc域之第一次單元包含杵且Fc域之第二次單元包含臼。在一特定態樣中，Fc域之第一次單元包含胺基酸取代S354C及T366W (EU編號)，且Fc域之第二次單元包含胺基酸取代Y349C、T366S及Y407V (根據Kabat EU指數編號)。

【0190】杵-臼技術描述於例如US5,731,168；US7,695,936；Ridgway等人, Prot Eng 9, 617-621 (1996)及Carter, J Immunol Meth 248, 7-15 (2001)中。一般而言，方法涉及在第一多肽之界面處引入隆凸(「杵」)及在第二多肽之界面處引入對應凹穴(「臼」)，使得隆凸可定位於凹穴中以便促進雜二聚體形成且阻礙均二聚體形成。藉由用較大側鏈(例如酪胺酸或色胺酸)置換第一多肽界面中之小胺基酸側鏈來構築隆凸。大小與隆凸相同或類似之補償性凹穴係在第二多肽之界面中藉由用較小胺基酸側鏈(例如丙胺酸或蘇胺酸)置換大胺基酸側鏈來產生。

【0191】因此，在一個態樣中，在本發明之雙特異性抗原結合分子的Fc域的第一次單元的CH3域中，胺基酸殘基經具有較大側鏈體積之胺基酸殘基置換，由此在第一次單元之CH3域內產生隆凸，其可定位於第二次單元之CH3域內的凹穴中，且在Fc域之第二次單元的CH3域中，胺基酸殘基經具有較小側鏈體積之胺基酸殘基置換，由此在第二次單元之CH3域內產生凹穴，第一次單元之CH3域內的隆凸可可定位於該凹穴中。隆凸及凹穴可藉由改變編碼多肽之核酸，例如藉由定點突變誘發或藉由肽合成來製備。在一特定態樣中，在Fc域之第一次單元之CH3域中，位置366處之蘇胺酸殘基經色胺酸殘基(T366W)置換，且在Fc域之第二次單元之CH3域中，位置407處之酪胺酸殘基經纈胺酸殘基(Y407V)置換。在一個態樣

中，在Fc域之第二次單元中，位置366之蘇胺酸殘基另外經絲胺酸殘基(T366S)置換且位置368之白胺酸殘基經丙胺酸殘基(L368A)置換。

【0192】 在又一態樣，在Fc域之第一次單元中，位置354之絲胺酸殘基另外經半胱胺酸殘基(S354C)置換，且在Fc域之第二次單元中，位置349之酪胺酸殘基另外經半胱胺酸殘基(Y349C)置換。引入此等兩個半胱胺酸殘基使得Fc域之兩個次單元之間形成二硫橋鍵，進一步穩定二聚體(Carter (2001), J Immunol Methods 248, 7-15)。在一特定態樣中，Fc域之第一次單元包含胺基酸取代S354C及T366W (EU編號)，且Fc域之第二次單元包含胺基酸取代Y349C、T366S及Y407V (根據Kabat EU指數編號)。

【0193】 在一替代性態樣中，促進Fc域之第一與第二次單元結合的修飾包含調節靜電導向效應之修飾，例如PCT公開案WO 2009/089004中所描述。一般而言，此方法涉及用帶電胺基酸殘基置換兩個Fc域次單元之界面處之一或多個胺基酸殘基，使得同二聚體形成在靜電上不利的，但雜二聚在靜電上為有利的。

【0194】 如本文所報導之雙特異性抗體之重鏈的C端可為以胺基酸殘基PGK結束之完整C端。重鏈之C端可為縮短C端，其中已移除一或兩個C端胺基酸殘基。在一個較佳態樣中，重鏈之C端為以PG結束之縮短C端。在如本文所報導之所有態樣之一個態樣中，如本文所規定之包含包括C端CH3域之重鏈的雙特異性抗體包含C端甘胺酸-離胺酸二肽(G446及K447，根據Kabat EU索引編號)。在如本文所報導之所有態樣中之一個實施例中，如本文所規定之包含包括C端CH3域之重鏈的雙特異性抗體包含C端甘胺酸殘基(G446，根據Kabat EU索引編號)。

【0195】

Fab域中之修飾

在一個態樣中，本發明係關於一種含4-1BBL抗原結合分子，其包含：(a)能夠與腫瘤相關抗原特異性結合之Fab片段，(b)藉由二硫鍵彼此連接之第一及第二多肽，其中抗原結合分子之特徵在於第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接的兩個4-1BBL胞外域或其兩個片段，且在於第二多肽包含僅一個4-1BBL胞外域或其片段，及(c)由能夠穩定結合之第一及第二次單元構成的Fc域，其中在Fab片段中之一者中，可變域VH及VL或恆定域CH1及CL互換。根據互換單抗技術製備雙特異性抗體。

【0196】 在一個結合臂中具有域置換/交換的多特異性抗體(互換單抗VH-VL或互換單抗CH-CL)詳細描述於WO2009/080252及Schaefer, W. 等人, PNAS, 108 (2011) 11187-1191中。其明顯地減少由針對第一抗原之輕鏈與針對第二抗原之錯誤重鏈失配(相較於沒有此類域交換之方法)而造成的副產物。

【0197】 在一個態樣中，本發明係關於一種雙特異性抗原結合分子，其包含：(a)能夠與腫瘤相關抗原特異性結合之第一Fab片段，(b)藉由二硫鍵彼此連接之第一及第二多肽，其中抗原結合分子之特徵在於第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接的兩個4-1BBL胞外域或其兩個片段，且在於第二多肽包含僅一個4-1BBL胞外域或其片段，且其中其中之每一者與CH1或CL域連接，及(c)由能夠穩定結合之第一及第二次單元構成的Fc域，其中鄰近於4-1BBL之恆定域CL及CH1彼此置換，使得CH1域為輕鏈的一部分而CL域為重鏈的一部分。

【0198】 在另一態樣中，本發明係關於一種雙特異性抗原結合分

子，其包含：(a)包含能夠與4-1BB特異性結合之兩個Fab片段及Fc域之抗體的兩條輕鏈及兩條重鏈，及(b)能夠與腫瘤相關抗原特異性結合的兩個額外Fab片段，其中該等額外Fab片段各自經由肽連接子與(a)之重鏈之C端連接。在一特定態樣中，額外Fab片段為Fab片段，其中可變域VL及VH經彼此置換，使得VH域為輕鏈的一部分且VL域為重鏈的一部分。

【0199】 在另一態樣中，且為了進一步提高正確配對，雙特異性抗原結合分子包含：(a)能夠與腫瘤相關抗原特異性結合之第一Fab片段，(b)藉由二硫鍵彼此連接之第一及第二多肽，其中抗原結合分子之特徵在於第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接的兩個4-1BBL胞外域或其兩個片段，且在於第二多肽包含僅一個4-1BBL胞外域或其片段，且其中其中之每一者與CH1或CL域連接，及(c)由能夠穩定結合之第一及第二次單元構成的Fc域，該雙特異性抗原結合分子可含有不同的帶電胺基酸取代(所謂的「帶電殘基」)。將此等修飾引入互換或非互換CH1及CL域中。在一特定態樣中，本發明係關於一種雙特異性抗原結合分子，其中在CL域中之一者中，位置123 (EU編號)處之胺基酸經精胺酸(R)置換且位置124 (EU編號)處之胺基酸經離胺酸(K)取代，且其中在CH1域中之一者中，位置147 (EU編號)及位置213 (EU編號)處之胺基酸經麩胺酸(E)取代。

【0200】 更特定言之，本發明係關於一種包含Fab之雙特異性結合分子，其中在鄰近於4-1BBL之CL域中，位置123 (EU編號)處之胺基酸經精胺酸(R)置換且位置124 (EU編號)處之胺基酸經離胺酸(K)取代，且其中在鄰近於4-1BBL之CH1域中，位置147 (EU編號)及位置213 (EU編號)處之胺基酸經麩胺酸(E)取代。

【0201】

聚核苷酸

本發明進一步提供編碼如本文中所描述之抗體或其片段的經分離聚核苷酸。

【0202】 編碼本發明之抗體之經分離聚核苷酸可表述為編碼整個抗原結合分子的單一聚核苷酸或表述為共表現的多個(例如，兩個或更多個)聚核苷酸。由共表現之聚核苷酸編碼之多肽可經由例如二硫鍵或其他手段結合，以形成功能性抗原結合分子。舉例而言，免疫球蛋白之輕鏈部分可由來自免疫球蛋白之重鏈部分的單獨聚核苷酸編碼。當共表現時，重鏈多肽與輕鏈多肽結合，形成免疫球蛋白。

【0203】 在一些態樣中，經分離聚核苷酸編碼如本文中所描述之根據本發明之完整抗體。在其他實施例中，經分離聚核苷酸編碼如本文中所描述的根據本發明之抗體中所包含的多肽。

【0204】 在某些實施例中，聚核苷酸或核酸為DNA。在其他實施例中，本發明之聚核苷酸為RNA，例如呈信使RNA (mRNA)形式。本發明之RNA可為單股或雙股RNA。

【0205】

重組方法

本發明中所用之雙特異性抗體可例如藉由固態肽合成(例如梅里菲爾德固相合成(Merrifield solid phase synthesis))或重組生產獲得。對於重組生產，分離編碼例如如上文所描述之抗體或其多肽片段的一或多個聚核苷酸，且將其插入至一或多個載體中，以用於進一步選殖於宿主細胞中及/或在宿主細胞中表現。此類聚核苷酸可使用習知程序容易地分離及定序。在本發明之一個態樣中，提供包含本發明之聚核苷酸中之一或多者的

載體，較佳表現載體。可使用已為熟習此項技術者所熟知之方法來構築含有抗體(片段)之編碼序列連同適當轉錄/轉譯控制信號的表現載體。此等方法包括活體外重組DNA技術、合成技術及活體內重組/基因重組。參見例如 Maniatis 等人，MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y. (1989)；及Ausubel等人，CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1989)中所描述之技術。表現載體可為質體、病毒之一部分，或可為核酸片段。表現載體包括表現盒，將編碼抗體或其多肽片段之聚核苷酸(亦即編碼區)選殖至該表現盒中與啟動子及/或其他轉錄或轉譯控制元件可操作的連接。如本文所用，「編碼區」為核酸中由轉譯成胺基酸之密碼子組成的部分。儘管「終止密碼子」(TAG、TGA或TAA)不轉譯成胺基酸，但其可視為編碼區(若存在)之一部分，但任何側接序列(例如啟動子、核糖體結合位點、轉錄終止子、內含子、5'及3'非轉譯區及類似序列)不為編碼區之一部分。在單一聚核苷酸構築體中，例如在單一載體上，或在單獨聚核苷酸構築體中，例如在單獨(不同)載體上，可存在兩個或更多個編碼區。此外，任何載體可含有單一編碼區，或可包含兩個或更多個編碼區，例如本發明之載體可編碼一或多個多肽，其經由蛋白質裂解而轉譯後或共轉譯分離成最終蛋白質。另外，本發明之載體聚核苷酸或核酸可編碼與編碼本發明抗體或其多肽片段之聚核苷酸融合或未融合的異源編碼區或其變異體或衍生物。異源編碼區包括(但不限於)專用元件或基元，諸如分泌性信號肽或異源功能域。可操作連接為當基因產物(例如多肽)之編碼區與一或多個調節序列以使得基因產物之表現置於調節序列之影響或控制下的方式結合時。若誘導

啟動子功能導致編碼所要基因產物之mRNA轉錄且若兩個DNA片段之間連接的性質不干擾表現調節序列導引基因產物表現的能力或不干擾DNA模板轉錄的能力，則兩個DNA片段(諸如多肽編碼區及與其相關聯的啟動子)為「可操作地連接」。因此，若啟動子能夠影響彼核酸之轉錄，則啟動子區域與編碼多肽之核酸可操作地連接。啟動子可為僅導引預定細胞中之DNA實質性轉錄的細胞特異性啟動子。除啟動子以外的其他轉錄控制元件(例如強化子、操縱子、抑制子及轉錄終止信號)可與引導細胞特異性轉錄之聚核苷酸可操作地連接。

【0206】 合適的啟動子及其他轉錄控制區揭示於本文中。多個轉錄控制區已為熟習此項技術者所知。此等區域包括(但不限於)在脊椎動物細胞中起作用的轉錄控制區，諸如(但不限於)啟動子及增強子區段，其來自巨細胞病毒(例如即刻早期啟動子，連同內含子-A)、猴病毒40 (例如早期啟動子)及反轉錄病毒(諸如勞斯肉瘤病毒(Rous sarcoma virus))。其他轉錄控制區包括來源於脊椎動物基因(諸如肌動蛋白、熱休克蛋白、牛生長激素及兔α-血球蛋白)之區域，以及能夠控制真核細胞中之基因表現的其他序列。其他合適的轉錄控制區包括組織特異性啟動子及強化子以及誘導性啟動子(例如啟動子誘導性四環素(tetracyclin))。類似地，多種轉譯控制元件已為一般熟習此項技術者所知。此等元件包括(但不限於)核糖體結合位點、轉譯起始及終止密碼子，以及來源於病毒系統的元件(特定言之，內部核糖體入口位點或IRES，亦稱為CITE序列)。表現盒亦可包括其他特徵，諸如複製起點，及/或染色體整合元件，諸如反轉錄病毒長末端重複序列(LTR)，或腺相關聯病毒(AAV)反向末端重複序列(ITR)。

【0207】 本發明之聚核苷酸及核酸編碼區可能與編碼分泌性肽或信

號肽的其他編碼區連接，從而導引由本發明之聚核苷酸編碼的多肽之分泌。舉例而言，若需要分泌抗體或其多肽片段，則可將編碼信號序列之DNA置於本發明抗體或其多肽片段之核酸之上游。根據信號假設，哺乳動物細胞所分泌之蛋白質具有信號肽或分泌性前導序列，一旦生長蛋白質鏈跨越粗糙內質網之輸出已起始，該信號肽或分泌性前導序列自成熟蛋白質裂解。一般熟習此項技術者將認識到，脊椎動物細胞分泌的多肽通常具有與多肽之N端融合的信號肽，該信號肽自所轉譯之多肽裂解而產生分泌性或「成熟」形式的多肽。在某些實施例中，使用原生信號肽，例如免疫球蛋白重鏈或輕鏈信號肽，或彼序列之保持導引與其可操作地連接之多肽分泌之能力的功能衍生物。替代地，可使用異源哺乳動物信號肽或其功能衍生物。舉例而言，野生型前導序列可經人類組織纖維蛋白溶酶原活化因子(TPA)或小鼠β-葡糖醛酸酶之前導序列取代。

【0208】 在編碼本發明抗體或其多肽片段之聚核苷酸內或在該聚核苷酸之末端處，可包括編碼可用以幫助後續純化(例如組胺酸標記)或有助於標記融合蛋白之短蛋白質序列的DNA。

【0209】 在本發明之另一態樣中，提供一種宿主細胞，其包含本發明之一或多種聚核苷酸。在某些實施例中，提供一種宿主細胞，其包含本發明之一或多種載體。聚核苷酸及載體可併有本文分別關於聚核苷酸及載體所描述之任一特徵(單個或組合)。在一個態樣中，宿主細胞包含(例如已用以下轉化或轉染)包含編碼本發明抗體(之一部分)之聚核苷酸的載體。如本文所用，術語「宿主細胞」係指任何類型之可經工程改造以產生本發明之融合蛋白或其片段的細胞系統。適用於複製及支持抗原結合分子之表現的宿主細胞為此項技術中熟知。此類細胞可視需要經特定表現載體

轉染或轉導，且可生長含有大量載體之細胞以用於接種大型醱酵槽，以獲得足量的抗原結合分子以用於臨床應用。合適的宿主細胞包括原核微生物，諸如大腸桿菌，或各種真核細胞，諸如中國倉鼠卵巢細胞(CHO)、昆蟲細胞或其類似物。舉例而言，可在細菌中生產多肽，尤其在不需要糖基化時。在表現之後，可自可溶性部分中之細菌細胞糊狀物分離出多肽且可將該多肽進一步純化。除原核生物外，諸如絲狀真菌或酵母菌之真核微生物為適用於編碼多肽之載體的選殖或表現宿主，包括糖基化路徑已經「人類化」，從而生產具有部分或完全人類糖基化模式之多肽的真菌及酵母菌株。參見Gerngross, Nat Biotech 22, 1409-1414 (2004)，及Li等人, Nat Biotech 24, 210-215 (2006)。

【0210】 適用於表現(糖基化)多肽的宿主細胞亦來源於多細胞生物體(無脊椎動物及脊椎動物)。無脊椎動物細胞之實例包括植物及昆蟲細胞。已鑑別出眾多可與昆蟲細胞結合使用，尤其用於轉染草地黏蟲(Spodoptera frugiperda)細胞之桿狀病毒株。植物細胞培養物亦可用作宿主。參見例如美國專利第5,959,177號、第6,040,498號、第6,420,548號、第7,125,978號及第6,417,429號(描述在轉殖基因植物中產生抗體的PLANTIBODIES™技術)。脊椎動物細胞亦可用作宿主。舉例而言，適合於在懸浮液中生長之哺乳動物細胞株可為適用的。適用哺乳動物宿主細胞株之其他實例為藉由SV40轉化之猴腎臟CV1細胞株(COS-7)；人胚腎細胞株(293或293T細胞，如例如Graham等人, J Gen Virol 36, 59 (1977)中所描述)；幼倉鼠腎細胞(BHK)；小鼠塞特利氏細胞(TM4細胞，如例如Mather, Biol. Reprod. 23, 243-251 (1980))中所描述)；猴腎細胞(CV1)；非洲綠獼猴腎細胞(VERO-76)；人類子宮頸癌瘤細胞(HELA)；犬腎細胞

(MDCK)；水牛鼠肝細胞(BRL 3A)；人類肺細胞(W138)；人類肝細胞(Hep G2)；小鼠乳腺腫瘤(MMT 060562)；TRI細胞(如例如Mather等人, Annals N.Y. Acad Sci 383, 44-68 (1982)中所描述；MRC 5細胞；及FS4細胞。其他適用哺乳動物宿主細胞株包括中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，包括dhfr- CHO細胞(Urlaub等人, Proc Natl Acad Sci USA 77, 4216 (1980))；及骨髓瘤細胞株，諸如YO、NS0、P3X63及Sp2/0。關於適用於蛋白質生產之某些哺乳動物宿主細胞株之綜述，參見例如Yazaki及Wu, Methods in Molecular Biology, 第248卷 (B.K.C. Lo, 編, Humana Press, Totowa, NJ), 第255-268頁 (2003)。宿主細胞包括經培養細胞，例如經培養之哺乳動物細胞、酵母細胞、昆蟲細胞、細菌細胞及植物細胞(僅舉數例)，且亦包括轉殖基因動物、轉殖基因植物或經培養之植物或動物組織中所包含的細胞。在一個實施例中，宿主細胞為真核細胞，較佳為哺乳動物細胞，諸如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞、人胎腎(HEK)細胞或淋巴細胞(例如Y0、NS0、Sp20細胞)。在此等系統中表現外來基因之標準技術為此項技術中已知的。表現包含免疫球蛋白之重鏈或輕鏈之多肽的細胞可經工程改造，以便亦表現免疫球蛋白鏈中之另一者，使得所表現產物為具有重鏈及輕鏈的免疫球蛋白。

【0211】 在一個態樣中，提供一種生產本發明抗體或其多肽片段之方法，其中該方法包含：在適合於表現本發明抗體或其多肽片段的條件下，培養包含編碼如本文所提供之本發明抗體或其多肽片段之聚核苷酸的宿主細胞，及自該宿主細胞(或宿主細胞培養基)回收本發明抗體或其多肽片段。

【0212】 在某些實施例中，形成抗原結合分子之一部分之能夠與靶

細胞抗原(例如Fab片段)特異性結合的部分包含能夠與抗原結合的至少一免疫球蛋白可變區。可變區可形成天然或非天然存在之抗體及其片段之一部分且來源於天然或非天然存在之抗體及其片段。產生多株抗體及單株抗體之方法為此項技術中熟知的(參見例如Harlow及Lane, 「Antibodies, a laboratory manual」, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988)。非天然存在之抗體可使用固相肽合成法來構築，可以重組方式產生(例如，如美國專利第4,186,567號中所描述)或可藉由例如篩檢包含可變重鏈及可變輕鏈之組合文庫來獲得(參見例如McCafferty之美國專利第5,969,108號)。

【0213】 本發明中可使用任何動物物種之免疫球蛋白。適用於本發明之非限制性免疫球蛋白可為鼠類、靈長類動物或人類來源。若融合蛋白意欲用於人類用途，則可使用其中免疫球蛋白之恆定區係來自人類的免疫球蛋白之嵌合形式。人類化或全人類形式之免疫球蛋白亦可根據此項技術中熟知之方法來製備(參見例如Winter之美國專利第5,565,332號)。人類化可藉由多種方法來達成，包括(但不限於)：(a)將非人類(例如供體抗體)CDR移植至人類(例如受者抗體)構架區及恆定區上，保留或不保留關鍵構架殘基(例如對於保留良好抗原結合親和力或抗體功能而言具有重要作用之彼等殘基)；(b)僅將非人類特異性決定區(SDR或a-CDR；對於抗體-抗原相互作用而言具有關鍵作用之殘基)移植至人類構架區及恆定區上；或(c)移植整個非人類可變域，但藉由表面殘基置換而用人類類似區段對其進行「遮掩」。人類化抗體及其製造方法綜述於例如Almagro及Fransson, Front Biosci 13, 1619-1633 (2008)中，且進一步描述於例如Riechmann等人, Nature 332, 323-329 (1988)；Queen等人, Proc Natl Acad Sci USA 86, 10029-10033 (1989)；美國專利案第5,821,337號、第7,527,791號、

第6,982,321號及第7,087,409號；Jones等人，Nature 321, 522-525 (1986)；Morrison等人，Proc Natl Acad Sci 81, 6851-6855 (1984)；Morrison及Oi, Adv Immunol 44, 65-92 (1988)；Verhoeyen等人, Science 239, 1534-1536 (1988)；Padlan, Molec Immun 31(3), 169-217 (1994)；Kashmiri等人，Methods 36, 25-34 (2005) (描述SDR (a-CDR)移植)；Padlan, Mol Immunol 28, 489-498 (1991) (描述「表面重修」)；Dall'Acqua等人，Methods 36, 43-60 (2005) (描述「FR改組」)；及Osbourn等人, Methods 36, 61-68 (2005)及Klimka等人, Br J Cancer 83, 252-260 (2000) (描述FR改組的「導向選擇」方法)中。根據本發明之特定免疫球蛋白為人類免疫球蛋白。人類抗體及人類可變區可使用此項技術中已知之各種技術產生。人類抗體大體上描述於van Dijk及van de Winkel, Curr Opin Pharmacol 5, 368-74 (2001)及Lonberg, Curr Opin Immunol 20, 450-459 (2008)中。人類可變區可形成藉由融合瘤方法製得之人類單株抗體的一部分且可來源於藉由融合瘤方法製得的人類單株抗體(參見例如Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, 第51-63頁 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987))。人類抗體及人類可變區亦可藉由如下製備：向已經修飾之轉殖基因動物投與免疫原，從而回應於抗原攻擊而產生完整人類抗體或具有人類可變區之完整抗體(參見例如Lonberg, Nat Biotech 23, 1117-1125 (2005))。人類抗體及人類可變區亦可藉由分離選自人類衍生之噬菌體呈現文庫的Fv純系可變區序列來產生(參見例如Hoogenboom等人, Methods in Molecular Biology 178, 1-37 (O'Brien等人編, Human Press, Totowa, NJ, 2001)；及McCafferty等人, Nature 348, 552-554；Clackson等人, Nature 352, 624-628 (1991))。噬

菌體通常以單鏈Fv (scFv)片段或Fab片段形式呈現抗體片段。

【0214】 在某些態樣中，根據例如PCT公開案WO 2012/020006 (參見關於親和力成熟之實例)或美國專利申請公開案第2004/0132066號中揭示之方法，將抗體進行工程改造以具有增強的結合親和力。本發明之抗原結合分子與特異性抗原決定子結合之能力可經由酶聯免疫吸附分析(ELISA)或熟習此項技術者熟悉之其他技術(例如表面電漿子共振技術(Liljeblad等人, Glyco J 17, 323-329 (2000))及傳統結合分析(Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002))量測。可使用競爭分析來鑑別與參考抗體競爭與特定抗原之結合的抗原結合分子。在某些實施例中，此種競爭性抗原結合分子與同參考抗原結合分子所結合的相同抗原決定基(例如線性或構形抗原決定基)結合。抗原結合分子所結合之抗原決定基之定位的詳細例示性方法提供於Morris (1996) 「Epitope Mapping Protocols」, Methods in Molecular Biology第66卷(Humana Press, Totowa, NJ)中。在例示性競爭分析法中，在包含與抗原結合之第一標記抗原結合分子及測試與第一抗原結合分子競爭與抗原結合之能力的第二未標記抗原結合分子之溶液中培育經固定的抗原。第二抗原結合分子可存在於融合瘤上清液中。作為對照，在包含第一標記抗原結合分子但不包含第二未標記抗原結合分子之溶液中培育經固定的抗原。在允許第一抗體與抗原結合之條件下培育之後，移除過量的未結合之抗體，且量測與經固定的抗原結合的標記的量。若與對照樣本相比，測試樣本中與經固定的抗原結合之標記之量實質上降低，則表明第二抗原結合分子與第一抗原結合分子競爭與抗原結合。參見Harlow及Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual 第14章(Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)。

【0215】 如本文中所描述製備之本發明抗體可藉由此項技術中已知的技術(諸如高效液相層析法、離子交換層析法、凝膠電泳、親和力層析法、尺寸排阻層析法等)純化。用於純化特定蛋白質之實際條件部分地視諸如淨電荷、疏水性、親水性等因素而定，且對於熟習此項技術者而言為顯而易見的。對於親和層析純化，可使用與抗原結合分子結合之抗體、配體、受體或抗原。舉例而言，關於本發明之融合蛋白之親和層析純化，可使用具有蛋白A或蛋白G之基質。可使用序列蛋白A或G親和層析及尺寸排阻層析來分離基本上如實例中所描述之抗原結合分子。抗原結合分子或其片段之純度可藉由多種熟知的分析方法中之任一者測定，包括凝膠電泳、高壓液相層析及其類似方法。舉例而言，如實例中所描述表現之含4-1BBL抗原結合分子顯示為完整的且適當地組裝，如藉由還原及非還原SDS-PAGE所證明。

【0216】

分析

可藉由此項技術中已知之各種分析，對本文中提供之抗原結合分子針對其物理/化學特性及/或生物活性進行鑑別、篩選或表徵。

【0217】

1.親和力分析

本文所提供之雙特異性抗原結合分子對於對應受體之親和力，可根據闡述於實例中之方法(藉由表面電漿子共振(SPR))，使用標準儀器(BIAcore儀器(GE Healthcare))測定，且受體或靶蛋白可諸如藉由重組表現獲得。雙特異性抗原結合分子對於靶細胞抗原之親和力，亦可藉由表面電漿子共振(SPR)，使用諸如BIAcore儀器(GE Healthcare)之標準儀器測

定，且受體或靶蛋白可諸如藉由重組表現獲得。關於FAP-4-1BBL抗原結合分子，該等方法已更詳細地描述於國際專利申請公開案第WO 2016/075278 A1號中。根據一個態樣，藉由表面電漿子共振，使用BIACORE® T100機器(GE Healthcare)在25℃下量測K_D。

【0218】

2.結合分析及其他分析

在一個態樣中，如國際專利申請公開案第WO 2016/075278 A1號中更詳細地描述來測試如本文所報導之FAP-4-1BBL抗原結合分子的抗原結合活性。

【0219】

3.活性分析

在一個態樣中，提供用於鑑別FAP-4-1BBL抗原結合分子之生物活性的分析。

【0220】 在某些實施例中，在活體外共培養分析中，用人類免疫效應細胞，來測試如本文所報導之抗體的此類生物活性。

【0221】

醫藥組合物、調配物及投與途徑

在另一態樣中，本發明提供醫藥組合物，其包含本文提供之4-1BB促效劑及HER-2靶向療法或本文提供之藥劑，其例如用於下文治療方法中之任一者中。在一些態樣中，該HER-2靶向劑包含HER-2抗體、雙特異性HER-2抗體及/或HER-2抗體藥物結合物。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新。在一

些態樣中，HER-2靶向劑係選自由以下組成之群：曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新之組合。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含選自由以下組成之群的HER-2抗體：曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及馬戈妥昔單抗。在一個態樣中，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗或帕妥珠單抗。更特定言之，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗。在一些態樣中，HER-2靶向劑為經糖基工程改造之HER-2抗體，例如TrasGex。在一些態樣中，HER-2靶向劑為雙特異性HER-2抗體，例如Herceptarg。在一些態樣中，HER-2靶向劑為HER-2抗體藥物結合物，特定言之曲妥珠單抗恩他新(曲妥珠單抗-恩他新偶聯物)。

【0222】 在一些態樣中，醫藥組合物包含本文提供之4-1BB促效劑及至少一種醫藥學上可接受之賦形劑。在其他實施例中，醫藥組合物包含本文提供之4-1BB促效劑及至少一種例如如下文所描述之額外治療劑。在一些實施例中，提供一種醫藥組合物，其包含HER-2靶向劑及至少一種醫藥學上可接受之賦形劑。

【0223】 本發明之醫藥組合物包含治療有效量之一或多種溶解或分散於醫藥學上可接受之賦形劑、載劑、佐劑或稀釋劑中之抗體或藥劑。片語「醫藥學上或藥理學上可接受」係指分子實體及組合物在所用劑量及濃度下對於接受者而言一般為無毒性的，亦即當適當時向動物(諸如人類)投與時，不會產生有害的過敏反應或其他不良反應。含有至少一種抗體及視情況選用之額外活性成分的醫藥組合物之製備將為熟習此項技術者依據本發明而知，如以引用的方式併入本文中之Remington's Pharmaceutical Sciences, 第18版 Mack Printing Company, 1990所例示。特定言之，組合

物為凍乾調配物或水溶液。如本文所用，「醫藥學上可接受之賦形劑」包括如一般熟習此項技術者已知之任何及所有溶劑、緩衝液、分散介質、包衣、界面活性劑、抗氧化劑、防腐劑(例如抗細菌劑、抗真菌劑)、等張劑、鹽、穩定劑及其組合。

【0224】 非經腸組合物包括為藉由注射(例如皮下、皮內、病灶內、靜脈內、動脈內、肌肉內、鞘內或腹膜內注射)投藥所設計的彼等組合物。對於注射，本發明之抗原結合分子可於水溶液中調配，較佳於生理上相容的緩衝液(諸如漢克氏溶液(Hanks' solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)或生理鹽水緩衝液)中調配。溶液可含有調配劑，諸如懸浮劑、穩定劑及/或分散劑。替代地，融合蛋白可呈粉末形式以用於在使用之前用合適的媒劑(例如，無菌無熱原質水)復原。藉由將所需量之本發明之融合蛋白併入視需要具有多種下文列舉之其他成分之適當溶劑中來製備無菌可注射溶液。無菌性可容易地藉由例如經由無菌過濾膜過濾來實現。一般而言，分散液係藉由將各種滅菌活性成分併入含有基本分散介質及/或其他成分的無菌媒劑中來製備。在用於製備無菌可注射溶液、懸浮液或乳液之無菌粉末的情況下，較佳製備方法為真空乾燥及冷凍乾燥技術，其利用預先無菌過濾之液體介質產生活性成分加任何其他所需成分之粉末。視需要，液體介質宜經緩衝，且在與足量鹽水或葡萄糖一起注射之前，首先使液體稀釋劑呈等張性。組合物必須在製造及儲存條件下穩定且必須抵抗諸如細菌及真菌之微生物的污染作用而保藏。應瞭解，內毒素污染應最低限度地保持在安全水準，例如低於0.5 ng/mg蛋白質。合適的醫藥學上可接受之賦形劑包括(但不限於)：緩衝液，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(諸如十八烷基二甲基

苯甲基氯化銨；氯化六羥季銨；氯化苯甲烴銨；氯化苯索銨；酚、丁醇或苯甲醇；對羥基苯甲酸烷基酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(小於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如EDTA；糖，諸如蔗糖、甘露醇、岩藻糖或山梨醇；成鹽反離子，諸如鈉；金屬複合物(例如Zn-蛋白質複合物)；及/或非離子界面活性劑，諸如聚乙二醇(PEG)。水性注射懸浮液可含有增加懸浮液黏度之化合物，諸如羧甲基纖維素鈉、山梨糖醇、聚葡萄糖或其類似物。視情況，懸浮液亦可含有合適的穩定劑或增加化合物溶解性以允許製備高度濃縮溶液之藥劑。另外，活性化合物之懸浮液可視需要製備成油性注射懸浮液。合適的親脂性溶劑或媒劑包括脂肪油，諸如芝麻油；或合成脂肪酸酯，諸如油酸乙酯或三酸甘油酯；或脂質體。

【0225】 活性成分可包覆於微膠囊中，例如藉由凝聚技術或藉由界面聚合法所製備之微膠囊，例如分別為羥基甲基纖維素或明膠微膠囊及聚(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊；包覆於膠態藥物遞送系統(例如脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米顆粒及奈米膠囊)中或巨乳液中。此類技術揭示於 Remington's Pharmaceutical Sciences (第 18 版, Mack Printing Company, 1990)中。可以製備持續釋放型製劑。持續釋放型製劑之適合實例包括含有多肽之固體疏水性聚合物之半滲透基質，該等基質呈成形物品形式，例如膜或微膠囊。在特定實施例中，可注射組合物之延長吸收可藉由在組合物中使用延遲吸收劑(諸如單硬脂酸鋁、明膠或其組合)來達

成。

【0226】 本文中之例示性醫藥學上可接受之賦形劑進一步包括間質藥物分散劑，諸如可溶性中性活性玻尿酸酶醣蛋白(sHASEGP)，例如人類可溶性PH-20玻尿酸酶醣蛋白，諸如rHuPH20 (HYLENEX®, Baxter International, Inc.)。某些示例性sHASEGP (包括rHuPH20)及使用方法描述於美國專利公開案第2005/0260186號及第2006/0104968號中。在一個態樣中，sHASEGP與一或多種其他葡萄糖胺聚糖酶(諸如軟骨素酶)組合。

【0227】 例示性凍乾抗體調配物描述於美國專利第6,267,958號中。水性抗體調配物包括美國專利案第6,171,586號及WO 2006/044908中所描述之彼等調配物，後者中之調配物包括組胺酸-乙酸鹽緩衝液。

【0228】 除了先前描述的組合物之外，抗原結合分子亦可調配為儲槽式製劑。此類長效調配物可藉由植入(例如皮下或肌肉內植入)或藉由肌肉內注射來投與。因此，舉例而言，融合蛋白可用合適的聚合或疏水性材料(例如呈於可接受之油中的乳液形式)或離子交換樹脂調配，或調配成微溶性衍生物，例如微溶性鹽。

【0229】 包含本發明之抗原結合分子的醫藥組合物可藉助於習知混合、溶解、乳化、囊封、包覆或凍乾法製造。醫藥組合物可使用生理學上可接受之有利於將蛋白質處理成可在醫藥學上使用之製劑的一或多種載劑、稀釋劑、賦形劑或助劑，以習知方式調配。適當調配物視所選擇之投藥途徑而定。

【0230】 本發明抗體可調配成游離酸或鹼、中性或鹽形式之組合物。醫藥學上可接受之鹽為實質上保留游離酸或鹼之生物活性的鹽。此等

鹽包括酸加成鹽，例如與蛋白質組合物之游離胺基形成的鹽，或與無機酸(諸如鹽酸或磷酸)或有機酸(諸如乙酸、乙二酸、酒石酸或杏仁酸)形成的鹽。與游離羧基形成之鹽亦可衍生自無機鹼，諸如氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化銨、氫氧化鈣或氫氧化鐵；或有機鹼，諸如異丙胺、三甲胺、組胺酸或普魯卡因(procaine)。相較於對應的游離鹼形式，醫藥鹽傾向於更可溶於水性及其他質子溶劑中。

【0231】 本文中之組合物亦可含有多於一種為所治療之特定適應症所必需之活性成分，較佳為具有不會對彼此產生不利影響之互補活性的彼等活性成分。此類活性成分宜以對預期目的有效之量組合存在。

【0232】 用於活體內投與之調配物通常為無菌的。無菌性可容易地藉由例如經由無菌過濾膜過濾來實現。

【0233】

4-1BB促效劑及HER-2靶向療法之投與

4-1BB促效劑及HER-2靶向療法/藥劑兩者(本文中皆稱為物質)可藉由任何適合手段投與，包括非經腸、肺內及鼻內，且在需要局部治療時，病灶內投與。然而，本發明方法對於藉由非經腸(特定言之靜脈內)輸注投與之治療劑尤其適用。在一些態樣中，該HER-2靶向劑包含HER-2抗體、雙特異性HER-2抗體及/或HER-2抗體藥物結合物。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑係選自由以下組成之群：曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新之組合。在一些態樣中，

HER-2靶向劑包含選自由以下組成之群的HER-2抗體：曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及馬戈妥昔單抗。在一個態樣中，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗或帕妥珠單抗。更特定言之，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗。在一些態樣中，HER-2靶向劑為經糖基工程改造之HER-2抗體，例如TrasGex。在一些態樣中，HER-2靶向劑為雙特異性HER-2抗體，例如Herceptarg。在一些態樣中，HER-2靶向劑為HER-2抗體藥物結合物，特定言之曲妥珠單抗恩他新(曲妥珠單抗-恩他新偶聯物)。

【0234】 非經腸輸注包括肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下投與。部分地視投藥之短期或長期性而定，給藥可藉由任何適合之途徑(例如藉由注射，諸如靜脈內或皮下注射)來進行。本文中涵蓋各種給藥時程，包括(但不限於)單次投藥或經各個時間點多次投藥、快速投藥(bolus administration)及脈衝式輸注。在一個實施例中，非經腸(特定言之靜脈內)投與治療劑。在一特定實施例中，藉由靜脈內輸注投與治療劑。

【0235】 在一些態樣中，4-1BB促效劑及HER-2靶向劑係以單一組合物形式一起投與。在一些實施例中，4-1BB促效劑及HER-2靶向劑係以兩種或更多種不同組合物形式分開投與。

【0236】 4-1BB促效劑及HER-2靶向療法/藥劑兩者將以與符合良好醫學實踐之方式調配、給藥及投與。在此情形中考慮之因素包括所治療之特定病症、所治療之特定哺乳動物、個別患者之臨床病狀、病症起因、藥劑遞送位點、投藥方法、投藥時程及醫學從業者已知之其他因素。4-1BB促效劑及HER-2靶向療法/藥劑兩者未必但視情況與目前用於預防或治療所討論之病症的一或多種藥劑一起調配。此類其他藥劑之有效量視存在於調配物中之治療劑之量、病症或治療之類型及上文所論述之其他因素而

定。此等藥劑一般以相同劑量且以如本文所描述之投與途徑使用，或以本文所描述之劑量之約1%至99%使用，或以任何劑量且以憑經驗/臨床上判定為適當之任何途徑使用。

【0237】 對於疾病之預防或治療，4-1BB促效劑及HER-2靶向療法/藥劑(當以其組合或與一種或多種其他額外治療劑一起使用時)之適當劑量，將視以下而定：待治療之疾病的類型、4-1BB藥劑的類型、疾病的嚴重程度及時程、投與兩種藥劑是預防性還是治療性目的、先前療法、患者之臨床病史及對於治療劑之反應，以及主治醫師之判斷。一次性或歷經一系列治療向患者適當投與各物質。視疾病之類型及嚴重程度而定，約1 μg/kg至15 mg/kg (例如0.1 mg/kg-10 mg/kg)之物質可為向個體投與的初始候選劑量，無論是例如藉由一或多次獨立投與還是藉由連續輸注。視上文所提及之因素而定，一個典型的日劑量可在約1 μg/kg至100 mg/kg之範圍內或更高。對於歷經數日或更長時間之重複投與，治療一般將視病狀而定持續直至發生疾病症狀之所需抑制為止。各物質之一個例示性劑量將在約0.05 mg/kg至約10 mg/kg範圍內。因此，可向個體投與一或多次以下劑量：約0.5 mg/kg、1.0 mg/kg、2.0 mg/kg、3.0 mg/kg、4.0 mg/kg、5.0 mg/kg、6.0 mg/kg、7.0 mg/kg、8.0 mg/kg、9.0 mg/kg或10 mg/kg (或其任何組合)。此類劑量可間歇地投與，例如每一週、每兩週或每三週投與(例如，使得個體接受約兩個至約二十個，或例如約六個劑量之治療劑)。可在最初投與較高速效劑量、繼之以一或多個較低劑量，或最初投與較低劑量、繼之以一或多個較高劑量。例示性給藥方案包含投與約10 mg之初始劑量、繼之以約20 mg之治療劑之每兩週劑量。然而，其他給藥方案可為適用的。此療法之進程易於藉由習知技術及分析法來監測。

【0238】 在一個態樣中，4-1BB促效劑及HER-2靶向療法/藥劑兩者之投與為單次投與。在一些實施例中，4-1BB促效劑及HER-2靶向療法/藥劑係同時投與。術語「同時」意謂在同一時間或在較短時間段(通常小於1小時)內。在某些態樣中，治療劑之投與為兩次或更多次投與。在同一治療週期期間，在治療之與一種或多種其他藥物的同一天，及視情況與一種或多種其他藥物同時，投與與一種或多種其他藥物「並行」投與之藥物。舉例而言，對於每3週給予之療法，在3週循環之第-1天各自投與並行投與的藥物。在一個特定態樣中，每一週、每兩週或每三週(特定言之每兩週)投與該等物質。在一個態樣中，以治療有效量投與該物質。在一個態樣中，以以下之劑量投與該物質：約50 μg/kg、約100 μg/kg、約200 μg/kg、約300 μg/kg、約400 μg/kg、約500 μg/kg、約600 μg/kg、約700 μg/kg、約800 μg/kg、約900 μg/kg或約1000 μg/kg。在一個實施例中，以高於不投與Her-2靶向療法/藥劑之對應治療方案中4-1BB促效劑之劑量的劑量投與4-1BB促效劑。在一個實施例中，以高於不投與4-1BB促效劑之對應治療方案中HER-2靶向療法/藥劑之劑量的劑量投與HER-2靶向療法/藥劑。在一個態樣中，4-1BB促效劑之投與包含初次投與第一劑量之4-1BB促效劑，及隨後一或多次投與第二劑量之4-1BB促效劑，其中第二劑量高於第一劑量。在一個態樣中，4-1BB促效劑之投與包含初次投與第一劑量之4-1BB促效劑，及隨後一或多次投與第二劑量之4-1BB促效劑，其中第一劑量不低於第二劑量。

【0239】 當依序共投與兩種治療劑時，以由「特定時間段」分隔開之兩個獨立投與形式來投與該等藥劑。術語特定時間段意謂1小時至15天之任何時間。舉例而言，藥劑中之一者可在自投與另一藥劑之約1、2、

3、4、5、6或7天或1至24小時內投與，且在一個實施例中，特定時間段為1至3天，或2至8小時。

【0240】 在一個態樣中，在投與HER-2靶向療法/藥劑之前投與4-1BB促效劑。在另一態樣中，在投與4-1BB促效劑之前投與HER-2靶向療法/藥劑。

【0241】 在一些態樣中，每劑量投與之曲妥珠單抗恩他新之初始醫藥學上有效量將在約0.3至15 mg/kg患者體重/天範圍內。市售的T-DM1調配物(KADCYLA®，曲妥珠單抗-恩他新偶聯物)為於一次性小瓶中的無菌、白色至灰白色的無防腐劑的凍乾粉末。每一小瓶含有100 mg或160 mg曲妥珠單抗-恩他新偶聯物。在復原之後，每一一次性小瓶含有曲妥珠單抗-恩他新偶聯物(20 mg/mL)、聚山梨醇酯20 [0.02% (w/v)]、丁二酸鈉(10 mM)及蔗糖[6%> (w/v)]，其中pH為5.0，且密度為1.026 g/mL。在稀釋之後，藉由靜脈內輸注投與含有20 mg/mL曲妥珠單抗-恩他新偶聯物之所得溶液。

【0242】 帕妥珠單抗(PERJETA®)之市售調配物含有呈用於IV輸注之無防腐劑溶液形式的帕妥珠單抗420 mg/14 mL (30 mg/mL)，且可以大致420 mg(等效於對於70 kg個體之6 mg/kg的劑量)、大致525 mg、大致840 mg及/或大致1050 mg的固定劑量投與。處理可以較高速效劑量(例如840 mg，等效於12 mg/kg體重)開始。用於醫療用途之合適的帕妥珠單抗調配物包含含30 mg/mL帕妥珠單抗之20 mM乙酸組胺酸、120 mM蔗糖、0.02%聚山梨醇酯20，pH 6.0。替代的帕妥珠單抗調配物包含25 mg/mL帕妥珠單抗、10 mM 組胺酸-HCL緩衝液、240 mM蔗糖、0.02%聚山梨醇酯20，pH 6.0。

【0243】 在另一態樣中，4-1BB促效劑與HER-2靶向療法/藥劑一起使用，其中在組合治療之前用II型抗-CD20抗體(較佳地，奧濱尤妥珠單抗)進行預處理，其中預處理與組合處理之間的時間段足以減少個體中回應於II型抗-CD20抗體(較佳地，奧濱尤妥珠單抗)之B細胞。

【0244】 T細胞之活化可導致嚴重的細胞介素釋放症候群(CRS)。在由TeGenero進行的1期研究(Suntharalingam等人, N Engl J Med (2006) 355,1018-1028)中，所有6個健康志願者在輸注不適當給藥之T細胞刺激超促效劑抗CD28單株抗體之後，迅速經歷幾乎致命之嚴重細胞介素釋放症候群(CRS)。藉由對個體用II型抗-CD20抗體(諸如奧濱尤妥珠單抗)進行預處理，與向該個體投與T細胞活化治療劑(諸如本文所描述之4-1BB促效劑)相關的細胞介素釋放可顯著降低。使用GAZYVA®預處理(Gpt)將有助於快速消耗周邊血液及周圍淋巴樣器官兩者中之B細胞，使得藉由T細胞活化治療劑，來自於強力全身性T細胞活化的高度相關不良事件(AE) (例如CRS)的風險降低，同時支持T細胞活化治療劑的暴露水準自開始給藥時足夠高以介導腫瘤細胞消除。迄今為止，已在持續奧濱尤妥珠單抗臨床試驗中經數百患者評定及管控奧濱尤妥珠單抗之安全概況(包括細胞介素釋放)。最終，除支持T細胞活化抗體之安全概況以外，Gpt應亦幫助預防形成此等獨特分子之抗藥物抗體(ADA)。

【0245】 在本發明中，4-1BB促效劑及HER-2靶向療法/藥劑之組合可與療法中之其他藥劑組合使用。舉例而言，可共同投與至少一種額外治療劑。在某些態樣中，額外治療劑為免疫治療劑。在一些實施例中，額外治療劑為化學治療劑。合適的化學治療劑包括以下中之一或多種：蒽環黴素藥物，諸如小紅莓及表柔比星(epirubicin) (pharmorubicin®)；紫杉烷

藥物，諸如太平洋紫杉醇(Taxol®)及多烯紫杉醇(Taxotere®)；氟尿嘧啶(5FU)；環磷醯胺；甲胺喋呤；順鉑(cisplatin)；及卡培他濱(capecitabine)。其他額外治療劑包括激酶抑制劑拉帕替尼(lapatinib)(Tykerb)及來那替尼(neratinib) (Nerlynx)。

【0246】 上文所提及之此類組合療法涵蓋組合投與(其中兩種或更多種治療劑包括在同一或獨立調配物中)及單獨投與，在此情況下，治療劑之投與可在投與一或多種額外治療劑之前、同時及/或之後進行。在一個實施例中，治療劑之投與及額外治療劑之投與彼此在約一個月；或相隔約一週、兩週或三週；或相隔約一天、兩天、三天、四天、五天或六天內進行。

【0247】

治療方法及組合物

在一個態樣中，提供一種用於治療個體之癌症或延遲個體之癌症之進展的方法，其包含向該個體投與有效量之本文所描述的4-1BB促效劑及有效量之本文所描述的HER-2靶向劑。在各個態樣中，該HER-2靶向劑包含HER-2抗體、雙特異性HER-2抗體及/或HER-2抗體藥物結合物。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑係選自由以下組成之群：曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新之組合。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含選自由以下組成之群的HER-2抗體：曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及馬戈妥昔單抗。在一個態樣中，HER-2靶

向劑為曲妥珠單抗或帕妥珠單抗。更特定言之，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗。在一些態樣中，HER-2靶向劑為經糖基工程改造之HER-2抗體，例如TrasGex。在一些態樣中，HER-2靶向劑為雙特異性HER-2抗體，例如Herceptarg。在一些態樣中，HER-2靶向劑為HER-2抗體藥物結合物，特定言之曲妥珠單抗恩他新(曲妥珠單抗-恩他新偶聯物)。

【0248】 在一個此類態樣中，該方法進一步包含向個體投與有效量之至少一種額外治療劑。合適的額外藥劑包括以下中之一或多種：蒽環黴素藥物，諸如小紅莓及表柔比星(pharmorubicin®)；紫杉烷藥物，諸如太平洋紫杉醇(Taxol®)及多烯紫杉醇(Taxotere®)；氟尿嘧啶(5FU)；環磷醯胺；甲胺喋呤；順鉑；及卡培他濱。其他合適的額外治療劑包括激酶抑制劑拉帕替尼(Tykerb)及來那替尼(Nerlynx)。在其他實施例中，本文提供一種用於腫瘤縮小之方法，其包含向個體投與有效量之如本文所描述之4-1BB促效劑及HER-2靶向劑。根據任一上述態樣之「個體(individual或subject)」較佳為人類。

【0249】 在一個態樣中，本發明提供一種用於治療癌症或延遲癌症之進展之方法中的4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑與HER-2靶向劑組合使用。在另一態樣中，本發明提供一種4-1BB促效劑及一種HER-2靶向劑，其用於治療癌症或延遲癌症之進展之方法中。在一些實施例中，將4-1BB促效劑及/或HER-2靶向劑與額外治療劑組合。

【0250】 在其他態樣中，提供一種用於癌症免疫療法中之組合物，其包含4-1BB促效劑及HER-2靶向劑。在某些實施例中，提供一種組合物，其包含4-1BB促效劑及HER-2靶向劑，其用於癌症免疫療法之方法中。

【0251】 在另一態樣中，本文提供一種包含4-1BB促效劑及HER-2靶向劑之組合物之用途，其用於製造或製備藥物。在一些實施例中，藥物係用於治療癌症。在一些實施例中，藥物係用於治療實體腫瘤。在一些實施例中，藥物係用於腫瘤縮小之方法中，該方法包含向患有實體腫瘤之個體投與有效量之藥物。在一個此類實施例中，該方法進一步包含向個體投與有效量之至少一種額外治療劑。在一些實施例中，藥物係用於治療實體腫瘤。

【0252】 在特定態樣中，個體患有HER-2陽性癌症。在一些實施例中，癌症可包含過度表現HER-2之細胞。在一些實施例中，癌症包含實體腫瘤。在一些實施例中，實體腫瘤為晚期及/或轉移性實體腫瘤。在一些態樣中，HER-2陽性癌症為乳癌、卵巢癌、胃癌(stomach cancer)、胃癌(gastric cancer)、食道癌、肺癌(例如，肺腺癌或非小細胞肺癌(NSCLC))、子宮癌(例如，子宮漿液性子宮內膜癌)、唾液管癌、膀胱癌、子宮內膜癌、胰臟癌、結腸癌、前列腺癌及/或頭頸癌。在一些態樣中，乳癌為乳房癌或乳腺癌。在一些態樣中，乳癌為侵襲性乳腺管癌。在一些態樣中，肺癌為肺腺癌。在一些實施例中，結腸癌為結腸直腸腺癌。根據任一上述實施例之「個體」可為人類。

【0253】 在一些態樣中，癌症為HER-2陽性乳癌，特定言之轉移性乳癌(階段IV乳癌)。在一些態樣中，癌症為階段II或III HER-2陽性乳癌。在一些態樣中，癌症為HER-2陽性早期乳癌。在一些態樣中，癌症為HER-2陽性胃癌。

【0254】 處理可旨在預防癌症發展或進展。因此，可使用本文所描述之4-1BB促效劑及HER-2靶向劑，防治性治療個體以抵抗疾病狀態之發

展。此可在疾病狀態之症狀發作之前進行，及/或可向視為處於較高的發展或進展癌症風險之下的個體給予。

【0255】 在一些實施例中，4-1BB促效劑與HER-2靶向劑協同作用。

【0256】 上文提及之該等組合療法涵蓋組合投與(其中兩種或更多種治療劑包括在同一或單獨調配物中)及單獨投與，在此情況下，如本文所報導之抗體的投與可在投與一或多種額外治療劑之前、同時及/或之後進行。在一個實施例中，4-1BB促效劑及HER-2靶向劑之投與及視情況額外治療劑之投與在相隔約一個月內、或在相隔約一、二或三週內、或在相隔約一、二、三、四、五或六天內進行。

【0257】 如本文所描述之4-1BB促效劑及HER-2靶向劑兩者(及任何額外治療劑)可藉由任何適合手段投與，包括非經腸、肺內及鼻內，且在需要局部治療時，病灶內投與。非經腸輸注包括肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下投與。部分地視投藥之短期或長期性而定，給藥可藉由任何適合之途徑(例如藉由注射，諸如靜脈內或皮下注射)來進行。本文中涵蓋各種給藥時程，包括(但不限於)單次投藥或經各個時間點多次投藥、快速投藥(bolus administration)及脈衝式輸注。

【0258】 如本文所描述之4-1BB促效劑及HER-2靶向劑兩者將以與符合良好醫學實踐之方式調配、給藥及投與。在此情形中考慮之因素包括所治療之特定病症、所治療之特定哺乳動物、個別患者之臨床病狀、病症起因、藥劑遞送位點、投藥方法、投藥時程及醫學從業者已知之其他因素。抗體無需但視情況與一或多種當前用於預防或治療所討論病症之藥劑一起調配。此類其他藥劑之有效量視存在於調配物中之抗體之量、病症或

治療之類型及如上文所論述之其他因素而定。此等藥劑一般以相同劑量且以如本文所描述之投與途徑使用，或以本文所描述之劑量之約1%至99%使用，或以任何劑量且以憑經驗/臨床上判定為適當之任何途徑使用。

【0259】

製品(套組)

在本發明之另一態樣中，提供一種套組，其含有適用於治療、預防及/或診斷上文所描述之病症的物質材料。套組包含至少一個容器及在容器上或容器隨附之標記或藥品說明書。合適的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、IV溶液袋等。容器可由多種材料(諸如玻璃或塑膠)形成。容器容納單獨或與有效治療、預防及/或診斷病狀之另一組合物組合之組合物，且可具有無菌接取口(例如容器可為具有可由皮下注射針刺穿之塞子的靜脈內溶液袋或小瓶)。套組中之至少兩種活性劑為本發明之4-1BB促效劑及HER-2靶向劑。在一些態樣中，該HER-2靶向劑包含HER-2抗體、雙特異性HER-2抗體及/或HER-2抗體藥物結合物。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑係選自由以下組成之群：曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及曲妥珠單抗恩他新。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新之組合。在一些態樣中，HER-2靶向劑包含選自由以下組成之群的HER-2抗體：曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及馬戈妥昔單抗。在一個態樣中，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗或帕妥珠單抗。更特定言之，HER-2靶向劑為曲妥珠單抗。在一些態樣中，HER-2靶向劑為經糖基工程改造之HER-2抗體，例如TrasGex。在一些態樣中，

HER-2靶向劑為雙特異性HER-2抗體，例如Herceptarg。在一些態樣中，HER-2靶向劑為HER-2抗體藥物結合物，特定言之曲妥珠單抗恩他新(曲妥珠單抗-恩他新偶聯物)。

【0260】 在一特定態樣中，提供一種用於治療個體之癌症或延遲個體之癌症之進展的套組，其包含封裝，該封裝包含：(A)第一組合物，其包含作為活性成分之4-1BB促效劑及醫藥學上可接受之載劑；(B)第二組合物，其包含作為活性成分之HER-2靶向劑及醫藥學上可接受之載劑；及(C)在組合療法中，組合物之使用說明書。

【0261】 標記或藥品說明書指示如何將組合物用於治療所選病狀，且提供關於在組合療法中使用組合物的說明。此外，套組可包含：(a)第一容器以及其中所含之組合物，其中該組合物包含本發明之4-1BB促效劑；及(b)第二容器以及其中所含之組合物，其中該組合物包含本發明之HER-2靶向劑。另外，套組可包含含有可組合使用之其他活性成分的一或多個其他容器。本發明之此實施例中之製品可進一步包含指示組合物可用於治療特定病狀之藥品說明書。

【0262】 可替代地或另外，套組可進一步包含第二(或第三)容器，該第二(或第三)容器包含醫藥學上可接受之緩衝液，諸如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸鹽緩衝鹽水、林格氏溶液及右旋糖溶液。其可進一步包括就商業及使用者觀點而言所需之其他材料，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

表C (序列)：

SEQ ID NO:	名稱	序列
1	人類(hu) 4-1BBL (71-254)	REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLL IDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELV VAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALH LQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFG

SEQ ID NO:	名稱	序列
		FQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLT QGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE
2	hu 4-1BBL (85-254)	LDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLA GVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLE LRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALA LTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRL GVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEI PAGLPSPRSE
3	hu 4-1BBL (80-254)	DPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYS DPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYY VFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAA GAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHL SAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGL FRVTPEIPAGLPSPRSE
4	hu 4-1BBL (52-254)	PWAVSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGL LDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLA GVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLE LRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALA LTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRL GVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEI PAGLPSPRSE
5	人類(hu) 4-1BBL (71-248)	REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLL IDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELV VAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALH LQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFG FQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLT QGATVLGLFRVTPEIPAGL
6	hu 4-1BBL (85-248)	LDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLA GVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLE LRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALA LTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRL GVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEI PAGL
7	hu 4-1BBL (80-248)	DPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYS DPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYY VFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAA GAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHL SAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGL FRVTPEIPAGL
8	hu 4-1BBL (52-248)	PWAVSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGL LDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLA GVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLE LRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALA LTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRL GVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEI PAGL
9	FAP (28H1) CDR-H1	SHAMS
10	FAP (28H1) CDR-H2	AIWASGEQYYADSVKG
11	FAP (28H1) CDR-H3	GWLGNFDY

SEQ ID NO:	名稱	序列
12	FAP (28H1) CDR-L1	RASQSVSRSYLA
13	FAP (28H1) CDR-L2	GASTRAT
14	FAP (28H1) CDR-L3	QQGQVIPPT
15	FAP(4B9) CDR-H1	SYAMS
16	FAP(4B9) CDR-H2	AIIGSGASTYYADSVKG
17	FAP(4B9) CDR-H3	GWFGGFNY
18	FAP(4B9) CDR-L1	RASQSVTSSYLA
19	FAP(4B9) CDR-L2	VGSRRAT
20	FAP(4B9) CDR-L3	QQGIMLPPT
21	FAP(28H1) VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHA MSWVRQAPGKGLEWVSAIWASGEQYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKGWLGNFDYWGQGTLVTVSS
22	FAP(28H1) VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSRSYL AWYQQKPGQAPRLLIIGASTRATGIPDRFSGSG SGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQGQVIPPTFGQ GTKVEIK
23	FAP(4B9) VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRQAPGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKGWFGGFNYWGQGTLVTVSS
24	FAP(4B9) VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVTSSYL AWYQQKPGQAPRLLINVGSRRATGIPDRFSGS GSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQGIMLPPTFG QGTKVEIK
25	由$(G4S)_2$連接子連接之二聚hu 4-1BBL (71-254)	REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLL IDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELV VAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALH LQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFG FQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLT QGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSEGGGGSGGG GSREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNV LLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKE LVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLA LHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSA FGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQ LTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE
26	由$(G4S)_2$連接子連接之二聚hu 4-1BBL (85-254)	LDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLA GVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLE LRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALA LTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRL GVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEI PAGLPSPRSEGGGGSGGGGSLDLRQGMFAQLV AQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKE DTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGS VSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEA RNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARAR HAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE
27	由$(G4S)_2$連接子連接之二	DPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYS

SEQ ID NO:	名稱	序列
	聚hu 4-1BBL (80-254)	DPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYY VFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAA GAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHL SAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGL FRVTPEIPAGLPSPRSEGGGGSGGGGSDPAGLL DLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLA GVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLE LRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALA LTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRL GVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEI PAGLPSPRSE
28	由$(G4S)_2$連接子連接之二聚hu 4-1BBL (52-254)	PWAVSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGL LDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLA GVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLE LRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALA LTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRL GVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEI PAGLPSPRSEGGGGSGGGGSPWAVSGARASPG SAASPRLREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLV AQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKE DTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGS VSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEA RNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARAR HAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE
29	由$(G4S)_2$連接子連接之二聚hu 4-1BBL (71-248)	REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLL IDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELV VAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALH LQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFG FQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLT QGATVLGLFRVTPEIPAGLGGGGSGGGGSREG PELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDG PLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAK AGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQP LRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQG RLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGA TVLGLFRVTPEIPAGL
30	由$(G4S)_2$連接子連接之二聚hu 4-1BBL (85-248)	LDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLA GVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLE LRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALA LTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRL GVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEI PAGLGGGGSGGGGSLDLRQGMFAQLVAQNVL LIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKEL VVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLAL HLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAF GFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQL TQGATVLGLFRVTPEIPAGL
31	由$(G4S)_2$連接子連接之二聚hu 4-1BBL (80-248)	DPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYS DPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYY

SEQ ID NO:	名稱	序列
		VFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAA GAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHL SAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGL FRVTPEIPAGLGGGGSGGGGSDPAGLLDLRQG MFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTG GLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVA GEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLP PASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHT EARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGL
32	由$(G4S)_2$連接子連接之二聚hu 4-1BBL (52-248)	PWAVSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGL LDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLA GVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLE LRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALA LTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRL GVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEI PAGLGGGGSGGGGSPWAVSGARASPGSAASPR LREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVL LIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKEL VVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLAL HLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAF GFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQL TQGATVLGLFRVTPEIPAGL
33	CEA-HCDR1 (CEACAM5)	DTYMH
34	CEA-HCDR2 (CEACAM5)	RIDPANGNSKYVPKFQG
35	CEA-HCDR3 (CEACAM5)	FGYYVSDYAMAY
36	CEA-LCDR1 (CEACAM5)	RAGESVDIFGVGFLH
37	CEA-LCDR2 (CEACAM5)	RASNRAT
38	CEA-LCDR3 (CEACAM5)	QQTNEDPYT
39	CEA VH (CEACAM5)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDT YMHWVRQAPGQGLEWMGRIDPANGNSKYVP KFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAPFGYYVSDYAMAYWGQGTLVTVSS
40	CEA VL (CEACAM5)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAGESVDIFGV GFLHWYQQKPGQAPRLLIYRASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQTNEDPY TFGQGTKLEIK
41	二聚hu 4-1BBL (71-248) - CL* Fc杵鏈 (構築體2.4及5.4)	REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLL IDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELV VAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALH LQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFG FQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLT QGATVLGLFRVTPEIPAGLGGGGSGGGGSREG PELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDG PLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAK AGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQP LRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGFQG RLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGA TVLGLFRVTPEIPAGLGGGGSGGGGSRTVAAPS VFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ

SEQ ID NO:	名稱	序列
		WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GECDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
42	單體hu 4-1BBL (71-248) - CH1* (構築體2.4及5.4)	REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLL IDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELV VAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALH LQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFG FQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLT QGATVLGLFRVTPEIPAGLGGGGSGGGGSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPK SC
43	抗-FAP (4B9) Fc臼鏈 (構築體2.4)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRQAPGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKGWFGGFNYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
44	抗-FAP (4B9)輕鏈 (構築體2.4)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVTSSYL AWYQQKPGQAPRLLINVGSRRATGIPDRFSGS GSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQGIMLPPTFG QGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
45	二聚hu 4-1BBL (71-254) - CL* Fc杵鏈 (構築體1.2)	REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLL IDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELV VAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALH LQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFG FQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLT QGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSEGGGGSGGG GSREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNV LLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKE

SEQ ID NO:	名稱	序列
		LVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLA LHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSA FGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQ LTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSEGGGGSG GGGSRTVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGECDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
46	單體hu 4-1BBL (71-254) - CH1* (構築體1.2)	REGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLL IDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELV VAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALH LQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFG FQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLT QGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSEGGGGSGGG GSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVED YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDE KVEPKSC
47	抗-FAP(28H1) Fc臼鏈	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHA MSWVRQAPGKGLEWVSAIWASGEQYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKGWLGNFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
48	抗-FAP (28H1)輕鏈	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSRSYL AWYQQKPGQAPRLLIIGASTRATGIPDRFSGSG SGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQGQVIPPTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
49	DP47 Fc臼鏈	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC

SEQ ID NO:	名稱	序列
		AKGSGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
50	與二聚hu 4-1BBL (71-254) 融合之抗-FAP (4B9) Fc臼鏈	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRQAPGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKGWFGGFNYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGG GGSGGGGSREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQ LVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSY KEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGS GSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASS EARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEAR ARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE GGGGSGGGGSREGPELSPDDPAGLLDLRQGMF AQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGL SYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGE GSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPA SSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEA RARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRS E
51	與單體hu 4-1BBL (71-254) 融合之抗-FAP (4B9) Fc杵鏈	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRQAPGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKGWFGGFNYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL

SEQ ID NO:	名稱	序列
		PPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGSGGGGSREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFA QLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLS YKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGE GSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPA SSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEA RARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRS E
52	與二聚hu 4-1BBL (71-254)融合之抗-FAP (28H1) Fc臼鏈	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHA MSWVRQAPGKGLEWVSAIWASGEQYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKGWLGNFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGG GGSGGGGSREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQ LVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSY KEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGS GSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASS EARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEAR ARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE GGGGSGGGGSREGPELSPDDPAGLLDLRQGMF AQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGL SYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGE GSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPA SSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEA RARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRS E
53	與單體hu 4-1BBL (71-254)融合之抗-FAP (28H1) Fc杵鏈	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHA MSWVRQAPGKGLEWVSAIWASGEQYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKGWLGNFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES

SEQ ID NO:	名稱	序列
		NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGSGGGGSREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFA QLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLS YKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGE GSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPA SSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEA RARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRS E
54	與二聚hu 4-1BBL (71-254)融合之DP47 Fc臼鏈	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRQAPGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKGWFGGFNYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGG GGSGGGGSREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQ LVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSY KEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGS GSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASS EARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEAR ARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE GGGGSGGGGSREGPELSPDDPAGLLDLRQGMF AQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGL SYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGE GSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPA SSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEA RARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRS E
55	與單體hu 4-1BBL (71-254)融合之DP47 Fc杵鏈	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRQAPGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKGWFGGFNYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR

SEQ ID NO:	名稱	序列
		WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGSGGGGSREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFA QLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLS YKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGE GSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPA SSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEA RARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRS E
56	人類(hu) FAP	UniProt no. Q12884
57	hu FAP胞外域+聚lys標記 +his_6標記	RPSRVHNSEENTMRALTLKDILNGTFSYKTFFP NWISGQEYLHQSADNNIVLYNIETGQSYTILSN RTMKSVNASNYGLSPDRQFVYLESDYSKLWR YSYTATYYIYDLSNGEFVRGNELPRPIQYLCWS PVGSKLAYVYQNNIYLKQRPGDPPFQITFNGRE NKIFNGIPDWVYEEEMLATKYALWWSPNGKFL AYAEFNDTDIPVIAYSYYGDEQYPRTINIPYPKA GAKNPVVRIFIIDTTYPAYVGPQEVPVPAMIASS DYYFSWLTWVTDERVCLQWLKRVQNVSVLSI CDFREDWQTWDCPKTQEHIEESRTGWAGGFF VSTPVFSYDAISYYKIFSDKDGYKHIHYIKDTV ENAIQITSGKWEAINIFRVTQDSLFYSSNEFEEY PGRRNIYRISIGSYPPSKKCVTCHLRKERCQYY TASFSDYAKYYALVCYGPGIPISTLHDGRTDQEI KILEENKELENALKNIQLPKEEIKKLEVDEITL WYKMILPPQFDRSKKYPLLIQVYGGPCSQSVR SVFAVNWISYLASKEGMVIALVDGRGTAFQGD KLLYAVYRKLGVYEVEDQITAVRKFIEMGFIDE KRIAIWGWSYGGYVSSLALASGTGLFKCGIAV APVSSWEYYASVYTERFMGLPTKDDNLEHYK NSTVMARAEYFRNVDYLLIHGTADDNVHFQN SAQIAKALVNAQVDFQAMWYSDQNHGLSGLS TNHLYTHMTHFLKQCFSLSDGKKKKKKGHHH HHH
58	小鼠FAP	UniProt no. P97321
59	鼠類FAP胞外域+聚lys標記 +his_6標記	RPSRVYKPEGNTKRALTLKDILNGTFSYKTYFP NWISEQEYLHQSEDDNIVFYNIETRESYIILSNS TMKSVNATDYGLSPDRQFVYLESDYSKLWRY SYTATYYIYDLQNGEFVRGYELPRPIQYLCWSP VGSKLAYVYQNNIYLKQRPGDPPFQITYTGRE NRIFNGIPDWVYEEEMLATKYALWWSPDGKFL AYVEFNDSDIPIIAYSYYGDGQYPRTINIPYPKA GAKNPVVRVFIVDTTYPHHVGPMEVPVPEMIA SSDYYFSWLTWVSSERVCLQWLKRVQNVSVL SICDFREDWHAWECPKNQEHVEESRTGWAGG FFVSTPAFSQDATSYYKIFSDKDGYKHIHYIKD TVENAIQITSGKWEAIYIFRVTQDSLFYSSNEFE GYPGRRNIYRISIGNSPPSKKCVTCHLRKERCQ YYTASFSYKAKYYALVCYGPGLPISTLHDGRT DQEIQVLEENKELENSLRNIQLPKVEIKKLKDG

SEQ ID NO:	名稱	序列
		GLTFWYKMILPPQFDRSKKYPLLIQVYGGPCS QSVKSVFAVNWITYLASKEGIVIALVDGRGTAF QGDKFLHAVYRKLGVYEVEDQLTAVRKFIEMG FIDEERIAIWGWSYGGYVSSLALASGTGLFKC GIAVAPVSSWEYYASIYSERFMGLPTKDDNLEH YKNSTVMARAEYFRNVDYLLIHGTADDNVHF QNSAQIAKALVNAQVDFQAMWYSDQNHGILS GRSQNHLYTHMTHFLKQCFSLSDGKKKKKKG HHHHHH
60	食蟹獼猴FAP胞外域+聚lys標記+his$_6$標記	RPPRVHNSEENTMRALTLKDILNGTFSYKTFFP NWISGQEYLHQSADNNIVLYNIETGQSYTILSN RTMKSVNASNYGLSPDRQFVYLESDYSKLWR YSYTATYYIYDLSNGEFVRGNELPRPIQYLCWS PVGSKLAYVYQNNIYLKQRPGDPPFQITFNGRE NKIFNGIPDWVYEEEMLATKYALWWSPNGKFL AYAEFNDTDIPVIAYSYYGDEQYPRTINIPYPKA GAKNPFVRIFIIDTTYPAYVGPQEVPVPAMIASS DYYFSWLTWVTDERVCLQWLKRVQNVSVLSI CDFREDWQTWDCPKTQEHIEESRTGWAGGFF VSTPVFSYDAISYYKIFSDKDGYKHIHYIKDTV ENAIQITSGKWEAINIFRVTQDSLFYSSNEFEDY PGRRNIYRISIGSYPPSKKCVTCHLRKERCQYY TASFSDYAKYYALVCYGPGIPISTLHDGRTDQEI KILEENKELENALKNIQLPKEEIKKLEVDEITL WYKMILPPQFDRSKKYPLLIQVYGGPCSQSVR SVFAVNWISYLASKEGMVIALVDGRGTAFQGD KLLYAVYRKLGVYEVEDQITAVRKFIEMGFIDE KRIAIWGWSYGGYVSSLALASGTGLFKCGIAV APVSSWEYYASVYTERFMGLPTKDDNLEHYK NSTVMARAEYFRNVDYLLIHGTADDNVHFQN SAQIAKALVNAQVDFQAMWYSDQNHGLSGLS TNHLYTHMTHFLKQCFSLSDGKKKKKKGHHH HHH
61	人類CEA	UniProt no. P06731
62	全長4-1BBL	UniProt No. P41273
63	4-1BBL (50-254)	ACPWAVSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPA GLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPG LAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQ LELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAA LALTVDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQ RLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVT PEIPAGLPSPRSE
64	人類4-1BB	UniProt寄存編號Q07011
65	鼠類4-1BB	UniProt寄存編號P20334
66	食蟹獼猴4-1BB	Uniprot寄存編號F6W5G6
67	G4S肽連接子	GGGGS
68	(G4S)2	GGGGSGGGGS
69	(SG4)2	SGGGGSGGGG

SEQ ID NO:	名稱	序列
70	肽連接子	GGGGSGGGGSGGGG
71	肽連接子	GSPGSSSSGS
72	$(G4S)_3$肽連接子	$GGGGSGGGGSGGGGS_3$
73	$(G4S)_4$肽連接子	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
74	肽連接子	GSGSGSGS
75	肽連接子	GSGSGNGS
76	肽連接子	GGSGSGSG
77	肽連接子	GGSGSG
78	肽連接子	GGSG
79	肽連接子	GGSGNGSG
80	肽連接子	GGNGSGSG
81	肽連接子	GGNGSG
82	抗CEACAM5 Fc臼鏈 (構築體5.4)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDT YMHWVRQAPGQGLEWMGRIDPANGNSKYVP KFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAPFGYYVSDYAMAYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQ VCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
83	抗CEACAM5輕鏈 (構築體5.4)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAGESVDIFGV GFLHWYQQKPGQAPRLLIYRASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQTNEDPY TFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
84	DP47輕鏈	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYL AWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSG SGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
85	CD20	UniProt寄存編號P11836
86	二-mu4-1BBL-CL Fc杵鏈	參見表3
87	單-mu4-1BBL-CH1鏈	參見表3
88	VHCH1 (4B9) Fc臼鏈	參見表3

SEQ ID NO:	名稱	序列
89	VLCL(4B9)輕鏈	參見表3
90	VHCH1 (MU137-1)- 重鏈 Fc-DD-VL (28H1)	參見表5
91	VHCH1 (20H4.9)- 重鏈 Fc-KK-VH (28H1)	參見表5
92	VLCL-輕鏈(MU137-1)	參見表5
93	VHCH1 (MU137-1)- 重鏈 Fc-DD-VH (28H1)	參見表6
94	VHCH1 (MU137-1)- 重鏈 Fc-KK-VL (28H1)	參見表6
95	人類HER-2	UniProt寄存編號P04626-1
96	重鏈可變域VH，曲妥珠單抗	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDT YIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADS VKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYY CSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS
97	輕鏈可變域VL，曲妥珠單抗	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAV AWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSR SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQ GTKVEIK
98	重鏈可變域VH，帕妥珠單抗	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDY TMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIYNQ RFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSS
99	輕鏈可變域VL，帕妥珠單抗	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGV AWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFG QGTKVEIK

【0263】 關於人類免疫球蛋白輕鏈及重鏈之核苷酸序列之一般資訊提供於Kabat, E.A.等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, 美國公眾衛生服務署, 國家衛生研究院, Bethesda, MD (1991)中。抗體鏈之胺基酸係根據如上文所定義之Kabat之編號系統(Kabat, E.A.等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, 美國公眾衛生服務署, 國家衛生研究院, Bethesda, MD (1991))編號及歸類。

【0264】

本發明之態樣

下文列出本發明之一些態樣。

【0265】 1.一種用於治療癌症或延遲癌症之進展之方法中的4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑與HER-2靶向劑組合使用。

【0266】 2.一種用於治療癌症或延遲癌症之進展之方法中的4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑與HER-2靶向劑組合使用，且其中該4-1BB促效劑為包含能夠與腫瘤相關抗原特異性結合的至少一個抗原結合域的抗原結合分子。

【0267】 3.如態樣1之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑及該HER-2靶向劑以單一組合物形式一起投與或以兩種或更多種不同組合物形式分開投與。

【0268】 4.如態樣1或2之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑包含三個4-1BBL胞外域或其片段。

【0269】 5.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段之分子，且其中該等4-1BBL胞外域包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8，特定言之SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 5之胺基酸序列。

【0270】 6.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與腫瘤相關抗原特異性結合之至少一個抗原結合域。

【0271】 7.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或

其片段及能夠與纖維母細胞活化蛋白(FAP)特異性結合之至少一個抗原結合域。

【0272】 8.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，其中能夠與FAP特異性結合之抗原結合域包含：

(a)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列，或

(b)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。

【0273】 9.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域的抗原結合分子，其中能夠與FAP特異性結合之該抗原結合域包含含有SEQ ID NO: 21之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，或其中能夠

與FAP特異性結合之該抗原結合域包含含有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)。

【0274】 10.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含IgG Fc域，具體言之IgG1 Fc域或IgG4 Fc域之抗原結合分子。

【0275】 11.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含含有降低與Fc受體之結合及/或效應功能之一或多個胺基酸取代的Fc域的抗原結合分子。

【0276】 12.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含以下之抗原結合分子：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接的兩個4-1BBL胞外域或其片段，且其中該第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段。

【0277】 13.如前述態樣中任一項之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含以下之抗原結合分子：

(a)能夠與CD19特異性結合之至少一個Fab域，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於：

(i)分別地，第一多肽含有CH1或CL域及第二多肽含有CL或CH1域，其中第二多肽藉由CH1域與CL域之間的二硫鍵與第一多肽連接，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽

連接子彼此連接且與CH1或CL域連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之CL或CH1域連接，或

(ii)分別地，第一多肽含有CH3域及第二多肽含有CH3域，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與CH3域之C端連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該一個胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之CH3域之C端連接，或

(iii)分別地，該第一多肽含有VH-CL或VL-CH1域及該第二多肽含有VL-CH1域或VH-CL域，其中該第二多肽藉由CH1域與CL域之間的二硫鍵與第一多肽連接，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與VH或VL連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之VL或VH連接。

【0278】 14.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含以下之抗原結合分子：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個Fab域，該至少一個Fab域包含：含有SEQ ID NO: 21之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，或含有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於，該第一多肽包含選自由以下組成

之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31及SEQ ID NO: 32，且在於該第二多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8。

【0279】 15.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為選自由以下組成之群的抗原結合分子：

a)分子，其包含含有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列的第一重鏈、含有SEQ ID NO: 42之胺基酸序列的第一輕鏈、含有SEQ ID NO: 43之胺基酸序列的第二重鏈及含有SEQ ID NO: 44之胺基酸序列的第二輕鏈；及

b)分子，其包含含有SEQ ID NO: 45之胺基酸序列的第一重鏈、含有SEQ ID NO: 46之胺基酸序列的第一輕鏈、含有SEQ ID NO: 47之胺基酸序列的第二重鏈及含有SEQ ID NO: 48之胺基酸序列的第二輕鏈。

【0280】 16.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含以下之抗原結合分子：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽。

【0281】 17.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含以下之抗原結合分子：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽，及

(c)由能夠穩定結合之第一及第二次單元構成之Fc域，其中包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽視情況經由肽連接子與Fc域之兩個次單元中之一者的N端或C端胺基酸融合。

【0282】 18.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為抗-FAP/抗-4-1BB雙特異性抗體。

【0283】 19.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域的抗原結合分子。

【0284】 20.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域的抗原結合分子，其中能夠與CEA特異性結合之該抗原結合域包含：(a)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 38之胺基酸序列。

【0285】 21.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域的抗原結合分子，其中能夠與CEA特異性結合之該抗原結合域包含含有SEQ ID NO: 39之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HCEA)及含有SEQ ID NO: 40之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LCEA)。

【0286】 22.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-

1BB促效劑為包含IgG Fc域，具體言之IgG1 Fc域或IgG4 Fc域之抗原結合分子。

【0287】 23.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含含有降低與Fc受體之結合及/或效應功能之一或多個胺基酸取代的Fc域的抗原結合分子。

【0288】 24.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含以下之抗原結合分子：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接的兩個4-1BBL胞外域或其片段，且其中該第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段。

【0289】 25.如前述態樣中任一項之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含以下之抗原結合分子：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個Fab域，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於：

(i)分別地，第一多肽含有CH1或CL域及第二多肽含有CL或CH1域，其中第二多肽藉由CH1域與CL域之間的二硫鍵與第一多肽連接，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與CH1或CL域連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之CL或CH1域連接，或

(ii)分別地，第一多肽含有CH3域及第二多肽含有CH3域，且其中第

一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與CH3域之C端連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該一個胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之CH3域之C端連接，或

(iii)分別地，該第一多肽含有VH-CL或VL-CH1域及該第二多肽含有VL-CH1域或VH-CL域，其中該第二多肽藉由CH1域與CL域之間的二硫鍵與第一多肽連接，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與VH或VL連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之VL或VH連接。

【0290】 26.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含以下之抗原結合分子：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個Fab域，該至少一個Fab域包含：重鏈可變區(V_HCEA)，其包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於，該第一多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31及SEQ ID NO: 32，且在於該第二多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8。

【0291】 27.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-

1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：含有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列的第一重鏈、含有SEQ ID NO: 42之胺基酸序列的第一輕鏈、含有SEQ ID NO: 82之胺基酸序列的第二重鏈及含有SEQ ID NO: 83之胺基酸序列的第二輕鏈。

【0292】 28.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含以下之抗原結合分子：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽。

【0293】 29.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為包含以下之抗原結合分子：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽，及

(c)由能夠穩定結合之第一及第二次單元構成之Fc域，其中包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽視情況經由肽連接子與Fc域之兩個次單元中之一者的N端或C端胺基酸融合。

【0294】 30.如前述態樣之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑為抗CEA/抗-4-1BB雙特異性抗體。

【0295】 31.如前述態樣中任一項之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑與HER-2靶向劑組合使用，且其中該組合係以約一週至三週之間隔投與。

【0296】 32.一種醫藥產品，其包含：(A)第一組合物，其包含作為

活性成分之4-1BB促效劑及醫藥學上可接受之載劑；及(B)第二組合物，其包含作為活性成分之HER-2靶向劑及醫藥學上可接受之載劑，該等組合物組合、依序或同時使用以治療疾病，特定言之癌症。

【0297】 33.一種醫藥組合物，其包含4-1BB促效劑及HER-2靶向劑。

【0298】 34.如態樣32之醫藥組合物，其用於治療實體腫瘤。

【0299】 35.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑包含三個4-1BBL胞外域或其片段。

【0300】 36.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段之分子，且其中該等4-1BBL胞外域包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8，特定言之SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 5之胺基酸序列。

【0301】 37.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與腫瘤相關抗原特異性結合之至少一個抗原結合域的抗原結合分子。

【0302】 38.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該腫瘤相關抗原為FAP。

【0303】 39.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域的抗原結合分子，其中能夠與FAP特異性結合之該抗原結合域包含：

(a)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列，或

(b)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。

【0304】 40.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域的抗原結合分子，其中能夠與FAP特異性結合之該抗原結合域包含含有SEQ ID NO: 21之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，或其中能夠與FAP特異性結合之該抗原結合域包含含有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)。

【0305】 41.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子進一步包含由能夠穩定結合之第一及第二次單元構成的Fc域。

【0306】 42.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含IgG Fc域，具體言之IgG1 Fc域或IgG4 Fc域之抗原結合分子。

【0307】 43.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含含有降低與Fc受體之結合及/或效應功能之一或多個胺基酸取代的Fc域的抗原結合分子。

【0308】 44.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含含有胺基酸取代L234A、L235A及P329G之IgG1 Fc域的抗原結合分子。

【0309】 45.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接的兩個4-1BBL胞外域或其片段，且其中該第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段。

【0310】 46.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個Fab域，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於：

(i)分別地，第一多肽含有CH1或CL域及第二多肽含有CL或CH1域，其中第二多肽藉由CH1域與CL域之間的二硫鍵與第一多肽連接，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與CH1或CL域連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL

胞外域或其片段，該胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之CL或CH1域連接，或

(ii)分別地，第一多肽含有CH3域及第二多肽含有CH3域，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與CH3域之C端連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該一個胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之CH3域之C端連接，或

(iii)分別地，該第一多肽含有VH-CL或VL-CH1域及該第二多肽含有VL-CH1域或VH-CL域，其中該第二多肽藉由CH1域與CL域之間的二硫鍵與第一多肽連接，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與VH或VL連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之VL或VH連接。

【0311】 47.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個Fab域，該至少一個Fab域包含：含有SEQ ID NO: 21之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，或含有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於，該第一多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO:

27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31及SEQ ID NO: 32，且在於該第二多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8。

【0312】 48.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為選自由以下組成之群之抗原結合分子：

a)分子，其包含含有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列的第一重鏈、含有SEQ ID NO: 42之胺基酸序列的第一輕鏈、含有SEQ ID NO: 43之胺基酸序列的第二重鏈及含有SEQ ID NO: 44之胺基酸序列的第二輕鏈；及

b)分子，其包含含有SEQ ID NO: 45之胺基酸序列的第一重鏈、含有SEQ ID NO: 46之胺基酸序列的第一輕鏈、含有SEQ ID NO: 47之胺基酸序列的第二重鏈及含有SEQ ID NO: 48之胺基酸序列的第二輕鏈。

【0313】 49.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽。

【0314】 50.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽，及

(c)由能夠穩定結合之第一及第二次單元構成之Fc域，其中包含藉由

肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽視情況經由肽連接子與Fc域之兩個次單元中之一者的N端或C端胺基酸融合。

【0315】 51.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為抗-FAP/抗-4-1BB雙特異性抗體。

【0316】 52.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該腫瘤相關抗原為CEA。

【0317】 53.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域的抗原結合分子，其中能夠與CEA特異性結合之該抗原結合域包含：重鏈可變區(V_HCEA)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 38之胺基酸序列。

【0318】 54.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域的抗原結合分子，其中能夠與CEA特異性結合之該抗原結合域包含含有SEQ ID NO: 39之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HCEA)及含有SEQ ID NO: 40之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LCEA)。

【0319】 55.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子進一步包含由能夠穩定結合之第一及第二次單元構成的Fc域。

【0320】 56.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含IgG Fc域，具體言之IgG1 Fc域或IgG4 Fc域之抗原結合分子。

【0321】 57.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含含有降低與Fc受體之結合及/或效應功能之一或多個胺基酸取代的Fc域的抗原結合分子。

【0322】 58.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含含有胺基酸取代L234A、L235A及P329G之IgG1 Fc域的抗原結合分子。

【0323】 59.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接的兩個4-1BBL胞外域或其片段，且其中該第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段。

【0324】 60.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個Fab域，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於：

(i)分別地，第一多肽含有CH1或CL域及第二多肽含有CL或CH1域，其中第二多肽藉由CH1域與CL域之間的二硫鍵與第一多肽連接，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與CH1或CL域連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL

胞外域或其片段，該胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之CL或CH1域連接，或

(ii)分別地，第一多肽含有CH3域及第二多肽含有CH3域，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與CH3域之C端連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該一個胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之CH3域之C端連接，或

(iii)分別地，該第一多肽含有VH-CL或VL-CH1域及該第二多肽含有VL-CH1域或VH-CL域，其中該第二多肽藉由CH1域與CL域之間的二硫鍵與第一多肽連接，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與VH或VL連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之VL或VH連接。

【0325】 61.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個Fab域，該至少一個Fab域包含：重鏈可變區(V_HCEA)，其包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於該第一多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31及SEQ ID NO: 32，且在於該第二多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序

列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8。

【0326】 62.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：含有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列的第一重鏈、含有SEQ ID NO: 42之胺基酸序列的第一輕鏈、含有SEQ ID NO: 82之胺基酸序列的第二重鏈及含有SEQ ID NO: 83之胺基酸序列的第二輕鏈。

【0327】 63.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)包含藉由肽連接子彼此連接之4-1BBL胞外域或其片段的多肽。

【0328】 64.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽，及

(c)由能夠穩定結合之第一及第二次單元構成之Fc域，其中包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽視情況經由肽連接子與Fc域之兩個次單元中之一者的N端或C端胺基酸融合。

【0329】 65.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑為抗CEA/抗-4-1BB雙特異性抗體。

【0330】 66.如前述態樣中任一項之用於方法中之4-1BB促效劑或醫藥組合物，其中該HER-2靶向劑為曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠

單抗恩他新中之一或多者。

【0331】 67.如前述態樣中任一項之用於方法中之4-1BB促效劑或醫藥組合物，其中該HER-2靶向劑為曲妥珠單抗。

【0332】 68.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其中該4-1BB促效劑與HER-2靶向劑組合使用，且其中該組合係以約一週至三週之間隔投與。

【0333】 69.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其用於治療增殖性疾病(特定言之，癌症)或延遲增殖性疾病之進展。

【0334】 70.如前述態樣中任一項之醫藥組合物，其用於治療乳癌、卵巢癌、胃癌(stomach cancer)、胃癌(gastric cancer)、食道癌、肺癌、子宮癌、唾液管癌、膀胱癌、子宮內膜癌、胰臟癌、結腸癌、前列腺癌及/或頭頸癌。

【0335】 71.一種用於治療個體之癌症或延遲個體之癌症之進展的套組，其包含封裝，該封裝包含：(A)第一組合物，其包含作為活性成分之4-1BB促效劑及醫藥學上可接受之載劑；(B)第二組合物，其包含作為活性成分之HER-2靶向劑及醫藥學上可接受之載劑；及(C)在組合療法中，組合物之使用說明書。

【0336】 72.一種4-1BB促效劑及HER-2靶向劑之組合之用途，其用於製造用於治療增殖性疾病(特定言之，癌症)或延遲增殖性疾病之進展的藥物。

【0337】 73.一種4-1BB促效劑及HER-2靶向劑之組合之用途，其用於製造藥物，其中該藥物係用於治療實體腫瘤。

【0338】 74.一種用於治療個體之癌症或延遲個體之癌症之進展的方

法，其包含向該個體投與有效量之4-1BB促效劑及有效量之HER-2靶向劑。

【0339】 75.一種用於的治療個體之癌症或延遲個體之癌症之進展方法，其包含向該個體投與有效量之4-1BB促效劑及有效量之HER-2靶向劑，其中該4-1BB促效劑為抗原結合分子。

【0340】 76.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含Fc域之抗原結合分子。

【0341】 77.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含具有降低Fcγ受體結合及/或效應功能之修飾之Fc域的抗原結合分子。

【0342】 78.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段之抗原結合分子。

【0343】 79.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與腫瘤相關抗原特異性結合之抗原結合域的抗原結合分子。

【0344】 80.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段之分子，且其中該等4-1BBL胞外域包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8，特定言之SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 5的胺基酸序列。

【0345】 81.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與FAP特異性結合之至少一個部分的抗原結合分子，其中能夠與FAP特異性結合之該抗原結合域包含：

(a)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列，或

(b)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。

【0346】 82.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，其中能夠與FAP特異性結合之該抗原結合域包含含有SEQ ID NO: 21之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，或其中能夠與FAP特異性結合之該抗原結合域包含含有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)。

【0347】 83.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子進一步包含由能夠穩定結合之第一及第二次單元構成的Fc域。

【0348】 84.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含IgG Fc域，具體言之IgG1 Fc域或IgG4 Fc域之抗原結合分子。

【0349】 85.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含含有降低與Fc受體之結合及/或效應功能之一或多個胺基酸取代的Fc域的抗原結合分子。

【0350】 86.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接的兩個4-1BBL胞外域或其片段，且其中該第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段。

【0351】 87.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個Fab域，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於：

(i)分別地，第一多肽含有CH1或CL域及第二多肽含有CL或CH1域，其中第二多肽藉由CH1域與CL域之間的二硫鍵與第一多肽連接，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與CH1或CL域連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之CL或CH1域連接，或

(ii)分別地，第一多肽含有CH3域及第二多肽含有CH3域，且其中第

一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與CH3域之C端連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該一個胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之CH3域之C端連接，或

(iii)分別地，該第一多肽含有VH-CL或VL-CH1域及該第二多肽含有VL-CH1域或VH-CL域，其中該第二多肽藉由CH1域與CL域之間的二硫鍵與第一多肽連接，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與VH或VL連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之VL或VH連接。

【0352】 88.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個Fab域，該至少一個Fab域包含：含有SEQ ID NO: 21之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，或含有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於該第一多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31及SEQ ID NO: 32，且在於該第二多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、

SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8。

【0353】 89.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為選自由以下組成之群之抗原結合分子：

a)分子，其包含含有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列的第一重鏈、含有SEQ ID NO: 42之胺基酸序列的第一輕鏈、含有SEQ ID NO: 43之胺基酸序列的第二重鏈及含有SEQ ID NO: 44之胺基酸序列的第二輕鏈；及

b)分子，其包含含有SEQ ID NO: 45之胺基酸序列的第一重鏈、含有SEQ ID NO: 46之胺基酸序列的第一輕鏈、含有SEQ ID NO: 47之胺基酸序列的第二重鏈及含有SEQ ID NO: 48之胺基酸序列的第二輕鏈。

【0354】 90.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽。

【0355】 91.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為抗-FAP/抗-4-1BB雙特異性抗體。

【0356】 92.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與CEA特異性結合之至少一個部分的抗原結合分子，其中能夠與CEA特異性結合之該抗原結合域包含：

重鏈可變區(V_HCEA)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序

列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 38之胺基酸序列。

【0357】 93.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域的抗原結合分子，其中能夠與CEA特異性結合之該抗原結合域包含含有SEQ ID NO: 39之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HCEA)及含有SEQ ID NO: 40之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LCEA)。

【0358】 94.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子進一步包含由能夠穩定結合之第一及第二次單元構成的Fc域。

【0359】 95.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含IgG Fc域，具體言之IgG1 Fc域或IgG4 Fc域之抗原結合分子。

【0360】 96.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含含有降低與Fc受體之結合及/或效應功能之一或多個胺基酸取代的Fc域的抗原結合分子。

【0361】 97.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接的兩個4-1BBL胞外域或其片段，且其中該第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段。

【0362】 98.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個Fab域，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於：

(i)分別地，第一多肽含有CH1或CL域及第二多肽含有CL或CH1域，其中第二多肽藉由CH1域與CL域之間的二硫鍵與第一多肽連接，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與CH1或CL域連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之CL或CH1域連接，或

(ii)分別地，第一多肽含有CH3域及第二多肽含有CH3域，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與CH3域之C端連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該一個胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之CH3域之C端連接，或

(iii)分別地，該第一多肽含有VH-CL或VL-CH1域及該第二多肽含有VL-CH1域或VH-CL域，其中該第二多肽藉由CH1域與CL域之間的二硫鍵與第一多肽連接，且其中第一多肽包含兩個4-1BBL胞外域或其片段，該等胞外域或其片段藉由肽連接子彼此連接且與VH或VL連接，且其中第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段，該胞外域或其片段經由肽連接子與該多肽之VL或VH連接。

【0363】 99.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個Fab域，該至少一個Fab域包

含：重鏈可變區(V_HCEA)，其包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於該第一多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31及SEQ ID NO: 32，且在於該第二多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8。

【0364】 100.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：含有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列的第一重鏈、含有SEQ ID NO: 42之胺基酸序列的第一輕鏈、含有SEQ ID NO: 82之胺基酸序列的第二重鏈及含有SEQ ID NO: 83之胺基酸序列的第二輕鏈。

【0365】 101.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)包含藉由肽連接子彼此連接之三個4-1BBL胞外域或其片段的多肽。

【0366】 102.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑為抗CEA/抗-4-1BB雙特異性抗體。

【0367】 103.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑與HER-2靶向劑組合使用，且其中該組合係以約一週至三週之間隔投與。

【0368】 104.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑及該HER-2靶向劑以單一組合物形式一起投與或以兩種或更多種不同組合物形式分開投與。

【0369】 105.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑及該HER-2靶向劑係經靜脈內或皮下投與。

【0370】 106.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑與該HER-2靶向劑同時、在其之前或之後投與。

【0371】 107.如前述態樣中任一項之方法，其中該4-1BB促效劑及該HER-2靶向劑係同時投與。

【0372】 108.如前述態樣中任一項之用於治療癌症或延遲癌症之進展之方法中的4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑與HER-2靶向劑組合使用，且其中該4-1BB促效劑與該HER-2靶向劑協同作用。

【0373】 109.用於治療癌症或延遲癌症之進展之方法中的4-1BB促效劑，其中該4-1BB促效劑與HER-2靶向劑組合使用，且其中在該組合治療之前用II型抗-CD20抗體進行預治療，其中該預治療與該組合治療之間的時間段足以降低個體中回應於該II型抗-CD20抗體之B細胞。

【0374】 110.如態樣109之用於方法中之4-1BB促效劑，其中該II型抗-CD20抗體為奧濱尤妥珠單抗。

【0375】 111.一種用於治療個體之癌症或延遲個體之癌症之進展的方法，其包含向該個體投與有效量之4-1BB促效劑及有效量之HER-2靶向劑的組合，其中在用該組合治療之前用II型抗-CD20抗體進行預治療，其中該預治療與該組合治療之間的時間段足以降低個體中回應於該II型抗-CD20抗體之B細胞。

【0376】 112.如態樣111之方法，其中該II型抗-CD20抗體為奧濱尤妥珠單抗。

【0377】 113.一種組合，其包含4-1BB(CD137)促效劑及HER-2靶向劑，其中該4-1BB促效劑為包含能夠與腫瘤相關抗原特異性結合之至少一個抗原結合域的抗原結合分子。

【0378】 114.如態樣113之組合，其中該HER-2靶向劑包含HER-2抗體、HER-2雙特異性抗體及/或HER-2抗體藥物結合物。

【0379】 115.如態樣113或114之組合，其中該HER-2靶向劑包含曲妥珠單抗、帕妥珠單抗及/或曲妥珠單抗恩他新。

【0380】 116.如前述態樣中任一項之組合，其中該4-1BB促效劑包含三個4-1BBL胞外域或其片段。

【0381】 117.如前述態樣中任一項之組合，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段之分子，且其中該等4-1BBL胞外域包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8，特定言之SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 5之胺基酸序列。

【0382】 118.如前述態樣中任一項之組合，其中該4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與選自由纖維母細胞活化蛋白(FAP)及CEA組成之群之腫瘤相關抗原特異性結合的至少一個抗原結合域。

【0383】 119.如前述態樣中任一項之組合，其中該4-1BB促效劑為包含IgG Fc域，具體言之IgG1 Fc域或IgG4 Fc域之抗原結合分子。

【0384】 120.如前述態樣中任一項之組合，其中該4-1BB促效劑為包含含有降低與Fc受體之結合及/或效應功能之一或多個胺基酸取代的Fc域的抗原結合分子。

【0385】 121.如前述態樣中任一項之組合，其中該4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與纖維母細胞活化蛋白(FAP)特異性結合之至少一個抗原結合域。

【0386】 122.如前述態樣中任一項之組合，其中能夠與腫瘤相關抗原特異性結合之抗原結合域為能夠與FAP特異性結合的抗原結合域，該抗原結合域包含：

(a)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列，或

(b)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。

【0387】 123.如前述態樣中任一項之組合，其中能夠與腫瘤相關抗原特異性結合之該抗原結合域為能夠與FAP特異性結合的抗原結合域，該

抗原結合域包含含有SEQ ID NO: 21之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，或其中能夠與FAP特異性結合的該抗原結合域包含含有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)。

【0388】 124.如前述態樣中任一項之組合，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接的兩個4-1BBL胞外域或其片段，且其中該第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段。

【0389】 125.如前述態樣中任一項之組合，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個Fab域，該至少一個Fab域包含：含有SEQ ID NO: 21之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，或含有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於該第一多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31及SEQ ID NO: 32，且在於該第二多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序

列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8。

【0390】 126.如前述態樣中任一項之組合，其中該4-1BB促效劑為抗原結合分子，該抗原結合分子包含：含有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列的第一重鏈、含有SEQ ID NO: 42之胺基酸序列的第一輕鏈、含有SEQ ID NO: 43之胺基酸序列的第二重鏈及含有SEQ ID NO: 44之胺基酸序列的第二輕鏈。

【0391】 127.如前述態樣中任一項之組合，其中該4-1BB促效劑為抗-FAP/抗-4-1BB雙特異性抗體。

【0392】 128.如前述態樣中任一項之組合，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域或其片段及能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域的抗原結合分子。

【0393】 129.如前述態樣中任一項之組合，其中能夠與腫瘤相關抗原特異性結合之該抗原結合域為能夠與CEA特異性結合之抗原結合域，該抗原結合域包含：(a)重鏈可變區(V_HCEA)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 38之胺基酸序列。

【0394】 130.如前述態樣中任一項之組合，其中能夠與腫瘤相關抗原特異性結合之該抗原結合域為能夠與CEA特異性結合之抗原結合域，該抗原結合域包含含有SEQ ID NO: 39之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HCEA)

及含有SEQ ID NO: 40之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LCEA)。

【0395】 131.如前述態樣中任一項之組合，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接的兩個4-1BBL胞外域或其片段，且其中該第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段。

【0396】 132.如前述態樣中任一項之組合，其中該4-1BB促效劑為包含：

(a)能夠與CEA特異性結合之至少一個Fab域，該至少一個Fab域包含：重鏈可變區(V_HCEA)，其包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LCEA)，其包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子之特徵在於該第一多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31及SEQ ID NO: 32，且在於該第二多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8。

【0397】 133.如前述態樣中任一項之組合，其中該4-1BB促效劑為抗CEA/抗-4-1BB雙特異性抗體。

【0398】 134.如前述態樣中任一項之組合，其用作藥物。

【0399】 135.如前述態樣中任一項之組合，其中該4-1BB促效劑及

該HER-2靶向劑以單一組合物形式一起投與或以兩種或更多種不同組合物形式分開投與。

【0400】 136.如前述態樣中任一項之組合，其中該4-1BB促效劑及該HER-2靶向劑係用於同步投與或用於依序投與。

【0401】 137.如前述態樣中任一項之組合，其用於治療HER-2陽性癌症。

【0402】

實例

以下為本發明之方法及組合物的實例。應理解，考慮到上文提供之一般描述，可實踐各種其他實施例。

【0403】

重組DNA技術

使用標準方法來如Sambrook, J.等人, Molecular cloning: A laboratory manual; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989中所描述操作DNA。分子生物試劑係根據製造商之說明書使用。關於人類免疫球蛋白輕鏈及重鏈之核苷酸序列之一般資訊在以下中給出：Kabat, E.A.等人, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, NIH公開案第91-3242號。

【0404】

DNA定序

藉由雙股定序法測定DNA序列。

【0405】

基因合成

所需基因區段係使用適當模板藉由PCR產生，或藉由自動化基因合成法，藉由Geneart AG (Regensburg, Germany)自合成寡核苷酸及PCR產物合成。在確切基因序列無法獲得的情況下，基於來自最近同源物的序列來設計寡核苷酸引子，且藉由RT-PCR自來源於適當組織之RNA分離基因。將側接有單數個限制性核酸內切酶裂解位點的基因區段選殖至標準選殖/定序載體中。自經轉化之細菌純化出質體DNA且藉由UV光譜分析來測定濃度。經次選殖之基因片段之DNA序列藉由DNA定序來確認。基因區段設計成具有允許次選殖至各別表現載體中的合適的限制位點。所有構築體設計成具有5'端DNA序列，該序列編碼靶向真核細胞中分泌之蛋白質的前導肽。

【0406】

細胞培養技術

如Cell Biology (2000), Bonifacino, J.S., Dasso, M., Harford, J.B., Lippincott-Schwartz, J.及Yamada, K.M. (編), John Wiley & Sons, Inc.中之現有方案中所描述使用標準細胞培養技術。

【0407】

蛋白質純化

參考標準方案，自經過濾之細胞培養物清液層純化蛋白質。簡言之，將抗體施用於蛋白A瓊脂糖凝膠管柱(GE Healthcare)且用PBS洗滌。在pH 2.8下達成抗體之溶離，隨後立即中和樣本。在PBS或20 mm組胺酸、150 mM NaCl pH 6.0中，藉由尺寸排阻層析(Superdex 200，GE Healthcare)將聚集之蛋白質與單體抗體分離。單體抗體級分經合併、使用例如MILLIPORE Amicon Ultra (30 MWCO)離心濃縮器濃縮(必要時)、

冷凍且儲存在-20℃或-80℃下。提供部分樣本用於例如藉由SDS-PAGE、尺寸排阻層析(SEC)或質譜法進行後續蛋白質分析及分析型表徵。

【0408】

SDS-PAGE

根據製造商說明書使用NuPAGE® Pre-Cast凝膠系統(Invitrogen)。特定言之，使用10%或4-12% NuPAGE® Novex® Bis-TRIS Pre-Cast凝膠(pH 6.4)及NuPAGE® MES (還原性凝膠，具有NuPAGE® Antioxidant操作緩衝液添加劑)或MOPS (非還原性凝膠)操作緩衝液。

【0409】

分析性尺寸排阻層析

藉由HPLC層析進行用於測定抗體之聚集及寡聚狀態之尺寸排阻層析(SEC)。簡言之，將蛋白A純化抗體施用於Agilent HPLC 1100系統上300 mM NaCl、50 mM KH_2PO_4/K_2HPO_4，pH 7.5中之Tosoh TSKgel G3000SW管柱或Dionex HPLC系統上2×PBS中之Superdex 200管柱(GE Healthcare)。藉由UV吸光度及峰面積之積分來定量溶離之蛋白質。將BioRad Gel過濾標準151-1901用作標準。

【0410】

質譜法

此章節描述具有VH/VL交換(VH/VL互換單抗)之多特異性抗體之表徵，其中強調其正確組裝。藉由去糖基化完整互換單抗及去糖基化/纖維蛋白溶酶消化或以其他方式去糖基化/限制性LysC消化互換單抗之電噴霧電離質譜法(ESI-MS)來分析預期主要結構。

【0411】 將VH/VL互換單抗在蛋白質濃度為1 mg/ml下，在磷酸鹽

或Tris緩衝液中，在37℃下用N-糖苷酶F去糖基化達17小時。纖維蛋白溶酶或限制性LysC (Roche)消化用100 μg去糖基化VH/VL互換單抗在Tris緩衝液pH 8中，分別在室溫下進行120小時及在37℃下進行40分鐘。在質譜法之前，在Sephadex G25管柱(GE Healthcare)上經由HPLC將樣本去鹽。在配備有TriVersa NanoMate源(Advion)之maXis 4G UHR-QTOF MS系統(Bruker Daltonik)上經由ESI-MS測定總質量。

【0412】

使用表面電漿子共振(SPR) (BIACORE)測定多特異性抗體與各別抗原之結合及結合親和力

使用BIACORE儀器(GE Healthcare Biosciences AB, Uppsala, Sweden)，藉由表面電漿子共振研究所產生之抗體與各別抗原之結合。簡言之，對於親和力量測，經由胺偶合，將山羊抗-人類IgG JIR 109-005-098抗體固定在CM5晶片上以用於針對各別抗原之抗體之呈現。在HBS緩衝液(HBS-P) (10 mM HEPES、150 mM NaCl、0.005% Tween 20，pH 7.4)中，在25℃下(或替代地在37℃下)量測結合。在溶液中以多種濃度添加抗原(R&D Systems或內部純化)。藉由80秒至3分鐘之抗原注射來量測結合；藉由用HBS緩衝液洗滌晶片表面3-10分鐘來量測解離，且使用1:1朗繆爾結合模型(Langmuir binding model)來評估KD值。自樣本曲線減去陰性對照資料(例如緩衝液曲線)以用於系統內源性基線偏移之校正及降低雜訊信號。使用各別Biacore Evaluation軟體進行感測器圖譜之分析及親和力資料之計算。

【0413】

實例1

【0414】

FAP-4-1BBL抗原結合分子之製備、純化及表徵

如國際專利申請公開案第WO 2016/075278 A1號中所描述製備FAP-含靶向4-1BB配體三聚體之Fc融合抗原結合分子。

【0415】 特定言之，製備以下分子：

【0416】

a)一價FAP-含靶向及非靶向4-1BB配體三聚體之Fc融合抗原結合分子

將編碼與人類CL域融合之二聚4-1BB配體的多肽次選殖在杵上具有人類IgG1重鏈CH2及CH3域的框架中(Merchant, Zhu等人1998, Nature Biotechnol. 16, 677-681)。將含有一個4-1BB配體胞外域之多肽與人類IgG1-CH1域融合。在構築體2.4中，為了提高鏈之正確配對，另外將以下突變引入互換CH-CL (帶電變體)中。在與人類CL融合之二聚4-1BB配體中，引入E123R及Q124K，在與人類CH1融合之單體4-1BB配體中，引入K147E及K213E。

【0417】 將編碼對FAP具有特異性之結合子(純系28H1或純系4B9)之重鏈及輕鏈DNA序列之可變區，次選殖在具有臼之恆定重鏈或人類IgG1之恆定輕鏈的框架中。根據WO 2012/130831中描述之方法，已將Pro329Gly、Leu234Ala及Leu235Ala突變引入杵及臼重鏈之恆定區以消除與Fcγ受體之結合。含有S354C/T366W突變之二聚配體Fc杵鏈、單體CH1融合物、含有Y349C/T366S/L368A/Y407V突變之靶向抗-FAP-Fc臼鏈及抗-FAP輕鏈之組合，允許產生雜二聚體，其包括所組裝之三聚4-1BB配體及FAP結合Fab (**圖1A**)。已相應地藉由用生殖系DP47置換FAP結合子

來製備非靶向型式(**圖1C**)。

表1：一價構築體

	WO 2016/075278中之實例	包含
單FAP(4B9)-4-1BBL (帶電變體)	實例2.1.4 (構築體2.4)	SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42 SEQ ID NO:43及SEQ ID NO:44
單FAP(28H1)-4-1BBL	實例1.1 (構築體1.2)	SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46 SEQ ID NO:47及SEQ ID NO:48
單非靶向DP47-4-1BBL	實例1.4 (對照B)	SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46 SEQ ID NO:49及SEQ ID NO:84

【0418】

a)二價FAP-含靶向及非靶向4-1BB配體三聚體之Fc融合抗原結合分子

將編碼重鏈及輕鏈之重鏈及輕鏈可變區(特定地，對FAP具有特異性之結合子(純系28H1或純系4B9))的DNA序列，次選殖在具有臼之恆定重鏈、杵或人類IgG1之恆定輕鏈的框架中。根據WO 2012/130831中描述之方法，將Pro329Gly、Leu234Ala及Leu235Ala突變引入杵及臼重鏈之恆定區以消除與Fcγ受體之結合。此外，將包含兩個4-1BB配體胞外域之多肽與人類IgG1 Fc臼鏈之C端融合，且將包含一個4-1BB配體胞外域之多肽與人類IgG1 Fc杵鏈之C端融合。含有Y349C/T366S/L368A/Y407V突變之抗-FAP huIgG1臼二聚配體重鏈、含有S354C/T366W突變之抗-FAP huIgG1杵單體配體重鏈及抗-FAP輕鏈之組合，允許產生雜二聚體，其包括所組裝之三聚4-1BB配體及兩個FAP結合Fab (**圖1B**)。已相應地藉由用生殖系DP47置換FAP結合子來製備非靶向型式(**圖1D**)。

表2：二價構築體

	WO 2016/075278中之實例	包含
二FAP(4B9)-4-1BBL	實例2.1.3 (構築體2.3)	2 × SEQ ID NO:44、 SEQ ID NO:50及SEQ ID NO:51

二FAP(28H1)-4-1BBL	實例1.1 (構築體1.5)	2 × SEQ ID NO:48 SEQ ID NO:52及SEQ ID NO:53
二非靶向DP47-4-1BBL	實例2.2 (對照C)	2 × SEQ ID NO:49 SEQ ID NO:54及SEQ ID NO:55

【0419】 在WO 2016/075278之實例1至6中，分別詳細描述FAP-含靶向及未靶向4-1BB配體三聚體之Fc融合抗原結合分子的產生及表徵。

【0420】

實例2

【0421】

FAP靶向小鼠4-1BBL抗原結合分子(混合替代物)之製備、純化及表徵

如國際專利申請公開案第WO 2016/075278 A1號中所描述，製備包含單價結合FAP之促效小鼠4-1BB配體的雙特異性抗原結合分子，亦被稱為混合替代物或FAP-mu4-1BBL。如關於人類配體所描述，藉由用小鼠胞外域置換人類配體而製備靶向小鼠4-1BBL。

【0422】 根據Uniprot資料庫之Q3U1Z9-1序列，合成編碼小鼠4-1BB配體之胞外域之一部分(胺基酸104-309，包括C160S突變)的DNA序列。用於靶向4-1BB配體之FAP結合子為純系4B9。混合替代物FAP-mu4-1BBL之胺基酸序列可見於表3中。

表3：成熟混合替代物FAP-mu4-1BBL之胺基酸序列

SEQ ID NO:	描述	序列
86	二-mu4-1BBL-CL Fc杵鏈	RTEPRPALTITTSPNLGTRENNADQVTPVSHIGCPNTTQQGSP VFAKLLAKNQASLSNTTLNWHSQDGAGSSYLSQGLRYEED KKELVVDSPGLYYVFLELKLSPTFTNTGHKVQGWVSLVLQA KPQVDDFDNLALTVELFPCSMENKLVDRSWSQLLLLKAGH RLSVGLRAYLHGAQDAYRDWELSYPNTTSFGLFLVKPDNP WEGGGGSGGGGSRTEPRPALTITTSPNLGTRENNADQVTPV SHIGCPNTTQQGSPVFAKLLAKNQASLSNTTLNWHSQDGAG SSYLSQGLRYEEDKKELVVDSPGLYYVFLELKLSPTFTNTGH KVQGWVSLVLQAKPQVDDFDNLALTVELFPCSMENKLVDR SWSQLLLLKAGHRLSVGLRAYLHGAQDAYRDWELSYPNTT SFGLFLVKPDNPWEGGGGSGGGGSRTVAAPSVFIFPPSDRKL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE

		QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGECDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
87	單-mu4-1BBL-CH1鏈	RTEPRPALTITTSPNLGTRENNADQVTPVSHIGCPNTTQQGSP VFAKLLAKNQASLSNTTLNWHSQDGAGSSYLSQGLRYEED KKELVVDSPGLYYVFLELKLSPTFTNTGHKVQGWVSLVLQA KPQVDDFDNLALTVELFPCSMENKLVDRSWSQLLLLKAGH RLSVGLRAYLHGAQDAYRDWELSYPNTTSFGLFLVKPDNP WEGGGGSGGGGSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV EDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSC
88	VHCH1 (4B9) Fc臼鏈	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAIIGSGASTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL GAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
89	VLCL(4B9)輕鏈	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPG QAPRLLINVGSRRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC

【0423】 藉由使用eviFect (Evitria AG)，用哺乳動物表現載體共轉染生長於懸浮液中的CHO-K1細胞，來產生混合替代物FAP-mu4-1BBL。使用對應表現載體以1:1:1:1之比率(「載體Fc-臼重鏈」:「載體FAP輕鏈」:「載體4-1BBL Fc杵重鏈」:「載體mu4-1BBL輕鏈」)轉染細胞。

【0424】 為了轉染，在eviMake培養基(Evitria AG)中以不含血清之懸浮液培養CHO-K1細胞。在培育箱中在37℃下5% CO_2氛圍下7天後，藉由離心收集培養上清液以用於純化，且將溶液無菌過濾(0.22 mm過濾器)並保持於4℃下。

【0425】 藉由親和層析，使用蛋白A，隨後尺寸排阻層析，自細胞

培養物上清液純化所分泌之蛋白質。對於親和層析，將上清液裝載於使用20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉pH 7.5平衡之蛋白A MabSelectSure管柱(GE Healthcare)上。藉由用含有20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉之緩衝液(pH 7.5)洗滌來移除未結合蛋白質。使用20 mM檸檬酸鈉、100 mM NaCl、100 mM甘胺酸、0.01% Tween20 ，pH 3.0之線性pH梯度之氯化鈉來溶離結合蛋白質。隨後用20 mM檸檬酸鈉、100 mM NaCl、100 mM甘胺酸、0.01% Tween20，pH 3.0洗滌管柱。藉由添加1/40 (v/v) 2 M Tris，pH 8.0來調節所收集之級分之pH。在裝載於用20 mM組胺酸、140 mM NaCl、0.01% Tween20，pH 6.0平衡之HiLoad Superdex管柱(GE Healthcare)上之前，將蛋白質進行濃縮且過濾。

【0426】 藉由使用基於胺基酸序列計算之莫耳消光係數量測280 nm下的OD來測定經純化的雙特異性構築體的蛋白質濃度。使用LabChipGXII (測徑規)在存在及不存在還原劑(Invitrogen, USA)下藉由CE-SDS分析雙特異性構築體之純度及分子量。在25℃下，使用在25 mM K_2HPO_4、125 mM NaCl、200 mM L-精胺酸單鹽酸鹽、0.02% (w/v) NaN_3、pH 6.7操作緩衝液中平衡之TSKgel G3000 SW XL分析型尺寸排阻管柱(Tosoh)，分析雙特異性構築體之聚集物含量。

表4：對混合替代物FAP-mu4-1BBL之生物化學分析

分子	單體[%]	產量 [mg/l]	CE-SDS (非紅色)
FAP-mu4-1BBL	95	3.2	92

【0427】

2.1 藉由表面電漿子共振對混合替代物FAP-mu4-1BBL進行功能性表徵

以如WO 2016/075278 A1中所描述之方式，藉由表面電漿子共振(SPR)評定同時結合鼠類4-1BB Fc(kih)及人類或鼠類FAP之能力。所有

SPR實驗均在Biacore T200上在25℃下用HBS-EP作為操作緩衝液(0.01 M HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.005%界面活性劑P20, Biacore, Freiburg/Germany)來進行。經生物素標記之鼠類4-1BB Fc(kih)與抗生蛋白鏈菌素(SA)感測器晶片之流動細胞直接偶合。使用至多600個共振單位(RU)之固定水準。

【0428】 FAP-靶向mu4-1BBL構築體以200 nM濃度範圍以30微升/分鐘流速歷經90秒流過流動細胞，且解離設定為零秒。以500 nM之濃度，以30微升/分鐘之流速，歷經90秒流過流動細胞，注射人類或鼠類FAP作為第二分析物。監測解離120秒。藉由減去在參考流動細胞(其中未固定蛋白質)中獲得之反應來校正整體折射率差異。

【0429】 如**圖2A**及**圖2B**之曲線中可見，混合替代物FAP-mu4-1BBL可同時結合鼠類4-1BB及鼠類/人類FAP。

【0430】

實例3

【0431】

與小鼠4-1BB二價結合且與FAP單價結合之雙特異性抗原結合分子之製備、純化及特徵化

對4-1BB二價結合且對FAP單價結合(亦稱為2+1)之雙特異性促效4-1BB抗體已類似於**圖1**來製備。在此實例中，構築體之第一重鏈HC1包含以下組分：抗-4-1BB (純系MU137-1)之VHCH1，隨後為含有突變Lys392Asp及Lys409Asp之Fc (稱為Fc-DD)，在其C端融合有抗-FAP結合子(純系28H1)之VL或VH。第二重鏈HC2包含抗-4-1BB (純系MU137-1)之VHCH1，隨後為含有突變Glu356Lys及Asp399Lys之Fc (稱為Fc-KK)，

在其C端融合有抗-FAP結合子(純系28H1)之VH或VL。用於促進抗體Fc雜二聚體形成之DDKK突變尤其由Gunasekaran等人, J. Biol. Chem. 2010,19637-19646所描述。靶向抗-FAP-Fc DD與抗-4-1BB-Fc KK鏈之組合允許產生雜二聚體，其包括FAP結合部分及兩個鼠類小鼠4-1BB結合Fab。根據例如Baudino等人 J. Immunol. (2008), 181, 6664-6669或WO 2016/030350 A1中所描述之方法，在重鏈之恆定區中引入DAPG突變以消除與小鼠Fc γ受體之結合。簡言之，將Asp265Ala及Pro329Gly突變引入Fc-DD及Fc-KK重鏈之恆定區以消除與Fcγ受體之結合(根據Kabat EU索引編號；亦即D265A，P329G)。

【0432】 a-FAP(28H1) VH與Fc-KK融合且VL與Fc-DD鏈融合之2+1抗-4-1BB(MU137-1)、抗-FAP(28H1)構築體之胺基酸序列可分別見於**表5**中。a-FAP(28H1) VL與Fc-KK融合且VH與Fc-DD鏈融合之2+1抗-4-1BB(MU137-1)、抗-FAP(28H1)構築體之胺基酸序列可分別見於**表6**中。

表5：雙特異性二價抗-4-1BB (MU137-1)/抗-FAP (28H1)小鼠IgG1 DAPG抗原結合分子(FAP VL與Fc-DD鏈融合且VH與Fc-KK鏈融合之構築體，下文亦稱為Fc-DD-VL)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
90	VHCH1 (MU137-1)- 重鏈 Fc-DD-VL (28H1)	DVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFIFSYFDMAWVR QAPTKGLEWVASISPSGDIPYYRDSVKGRFTVSRENAKSS LYLQMDSLRSEDTATYYCARRSYGGYSELDYWGQGVM VTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFP EPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSST WPSQTVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPE VSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVAISKDDPEVQFSW FVDDVEVHTAQTKPREEQINSTFRSVSELPIMHQDWLNG KEFKCRVNSAAFGAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKE QMAKDKVSLTCMITNFFPEDITVEWQWNGQPAENYDNT QPIMDTDGSYFVYSDLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGL HNHHTEKSLSHSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVL TQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSRSYLAWYQQKPGQ APRLLIIGASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFA

		VYYCQQGQVIPPTFGQGTKVEIK
91	VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fc-KK-VH (28H1)	DVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFIFSYFDMAWVR QAPTKGLEWVASISPSGDIPYYRDSVKGRFTVSRENAKSS LYLQMDSLRSEDTATYYCARRSYGGYSELDYWGQGVM VTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFP EPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSST WPSQTVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPE VSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVAISKDDPEVQFSW FVDDVEVHTAQTKPREEQINSTFRSVSELPIMHQDWLNG KEFKCRVNSAAFGAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKK QMAKDKVSLTCMITNFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNT QPIMKTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGL HNHHTEKSLSHSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQL LESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHAMSWVRQAPG KGLEWVSAIWASGEQYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKGWLGNFDYWGQGTLVTVSS
92	VLCL-輕鏈 (MU137-1)	DIQMTQSPASLSASLEEIVTITCQASQDIGNWLAWYHQKP GKSPQLLIYGTSSLADGVPSRFSGSSSGSQYSLKISRLQVE DIGIYYCLQAYGAPWTFGGGTKLELKRADAAPTVSIFPPS SEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVL NSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHK TSTSPIVKSFNRNEC

表6：雙特異性二價抗-4-1BB (MU137-1)/一價抗-FAP (28H1)小鼠IgG1 DAPG抗原結合分子(FAP VH與Fc DD鏈融合且VL與Fc KK鏈融合之構築體，下文亦稱為Fc-DD-VH)之序列

SEQ ID NO:	描述	序列
93	VHCH1 (MU137-1)-重鏈Fc-DD-VH (28H1)	DVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFIFSYFDMAWVRQAP TKGLEWVASISPSGDIPYYRDSVKGRFTVSRENAKSSLYLQM DSLRSEDTATYYCARRSYGGYSELDYWGQGVMVTVSSAKT TPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSG SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSQTVTCNVAHP ASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTIT LTPKVTCVVVAISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTKPREEQI NSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFGAPIEKTISK TKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITNFFPEDITVE WQWNGQPAENYDNTQPIMDTDGSYFVYSDLNVQKSNWEA GNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHAM SWVRQAPGKGLEWVSAIWASGEQYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWLGNFDYWGQGTLVT VSS
94	VHCH1 (MU137-1)-重鏈Fc-KK-VL (28H1)	DVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFIFSYFDMAWVRQAP TKGLEWVASISPSGDIPYYRDSVKGRFTVSRENAKSSLYLQM DSLRSEDTATYYCARRSYGGYSELDYWGQGVMVTVSSAKT TPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSG SLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSQTVTCNVAHP

		ASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTIT LTPKVTCVVVAISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTKPREEQI NSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFGAPIEKTISK TKGRPKAPQVYTIPPPKKQMAKDKVSLTCMITNFFPEDITVE WQWNGQPAENYKNTQPIMKTDGSYFVYSKLNVQKSNWEA GNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSRSYLAW YQQKPGQAPRLLIIGASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE PEDFAVYYCQQGQVIPPTFGQGTKVEIK
92	VLCL-輕鏈 (MU137-1)	參見表5

【0433】 藉由使用eviFect (Evitria AG)、用哺乳動物表現載體共轉染生長於懸浮液中的CHO-K1細胞來製備雙特異性2+1抗-4-1BB抗-FAP muIgG1 DAPG。細胞用對應表現載體以1:1:1比率(「載體Fc-DD重鏈」:「載體輕鏈」:「載體Fc-KK重鏈」)轉染。

【0434】 為了轉染，在eviMake (Evitria AG)培養基中以不含血清之懸浮液培養CHO-K1細胞。在培育箱中在37℃下5% CO_2氛圍下7天後，藉由離心收集培養上清液以用於純化，且將溶液無菌過濾(0.22 mm過濾器)並保持於4℃下。

【0435】 藉由親和層析，使用蛋白A，隨後尺寸排阻層析，自細胞培養物上清液純化所分泌之蛋白質。對於親和層析，將上清液裝載至用40 mL 20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉pH 7.5平衡之蛋白A MabSelectSure管柱(CV = 5 mL，GE Healthcare)上。藉由用至少10管柱體積之含有20 mM磷酸鈉、20 mM檸檬酸鈉的緩衝液(pH 7.5)洗滌來移除未結合之蛋白質。結合之蛋白質使用超過15管柱體積之20 mM檸檬酸鈉、100 mM NaCl、100 mM甘胺酸，pH 3.0產生之線性pH梯度之氯化鈉(20至100 mM)溶離。隨後用10管柱體積之20 mM檸檬酸鈉、100 mM NaCl、100 mM甘胺酸，pH 3.0洗滌管柱。藉由添加1/40 (v/v) 2 M Tris，pH 8.0來調節所收集之級分之pH。在裝載於用20 mM組胺酸、140 mM NaCl，pH

6.0平衡之HiLoad Superdex 16/600 S200管柱(GE Healthcare)上之前，將蛋白質進行濃縮且過濾。

【0436】藉由使用基於胺基酸序列計算之莫耳消光係數量測280 nm下的OD來測定經純化的雙特異性構築體的蛋白質濃度。使用LabChipGXII (測徑規)在存在及不存在還原劑(Invitrogen, USA)下藉由CE-SDS分析雙特異性構築體之純度及分子量。在25℃下，使用在25 mM K_2HPO_4、125 mM NaCl、200 mM L-精胺酸單鹽酸鹽、0.02% (w/v) NaN_3、pH 6.7操作緩衝液中平衡之TSKgel G3000 SW XL分析型尺寸排阻管柱(Tosoh)，分析雙特異性構築體之聚集物含量。

表7 - 對與4-1BB二價結合且與FAP單價結合之雙特異性抗原結合分子(2+1)抗-4-1BB (MU137-1)、抗-FAP (28H1)小鼠IgG1 DAPG的生物化學分析

分子	單體[%]	產量 [mg/l]	CE-SDS (非紅色)
4-1BB (MU137-1)/ FAP(28H1) DAPG IgG1 2+1 (Fc-DD-VL)，在下文中稱為muFAP-4-1BB	98	3.6	92

【0437】

3.1 藉由表面電漿子共振對小鼠替代物muFAP-4-1BB進行功能性表徵

以如WO 2016/075278 A1中所描述之方式，藉由表面電漿子共振(SPR)評定同時結合鼠類4-1BB Fc(kih)及鼠類FAP之能力。所有SPR實驗均在Biacore T200上在25℃下用HBS-EP作為操作緩衝液(0.01 M HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.005%界面活性劑P20, Biacore, Freiburg/Germany)來進行。經生物素標記之鼠類4-1BB Fc(kih)與抗生蛋白鏈菌素(SA)感測器晶片之流動細胞直接偶合。使用至多600個共振單位

(RU)之固定水準。

【0438】 FAP-靶向4-1BBL構築體以200 nM濃度範圍以30微升/分鐘流速歷經90秒流過流動細胞，且解離設定為零秒。以500 nM之濃度，以30微升/分鐘之流速，歷經90秒流過流動細胞，注射鼠類FAP作為第二分析物。監測解離120秒。藉由減去在參考流動細胞(其中未固定蛋白質)中獲得之反應來校正整體折射率差異。如**圖2C**之曲線中可見，小鼠替代物muFAP-4-1BB可同時結合鼠類4-1BB及鼠類FAP。

【0439】

實例4

【0440】

單一注射後C57BL/6小鼠中之muFAP-4-1BB之藥物動力學概況

將單次劑量2.5 mg/kg之muFAP-4-1BB (根據實例3製備)注射至C57BL/6小鼠中。對所有小鼠均靜脈內注射200 µl適當溶液。為了得到每200 µl適當量之化合物，儲備溶液(muFAP-4-1BB；1.81 mg/mL，於20 mM組胺酸、140 mM NaCl pH 6.0中)用組胺酸緩衝液稀釋。在10分鐘、1小時、6小時、24小時、48小時、72小時、96小時、6天及9天處，對三隻小鼠/時間點進行抽血。藉由ELISA分析血清樣本中之所注射化合物。將經生物素標記之鼠類4-1BB、測試血清樣本、經HRP標記之偵測抗體抗msIgG，逐步添加至96孔抗生蛋白鏈菌素塗覆之微量滴定盤且在各步驟後於室溫下培育1 h。在各步驟後洗滌培養盤三次以移除未結合之物質。最終，藉由添加ABTS受質溶液形成著色反應產物來觀測過氧化酶結合之複合物。在405 nm下(參考波長在490 nm下)以光度測定反應產物強度，且其與血清樣本中之分析物濃度成比例。結果顯示在**圖3**中。muFAP-4-1BB

顯示穩定PK行為，其針對功效研究推薦每週一次之時程。

【0441】

實例5

【0442】

與曲妥珠單抗組合之混合FAP-mu4-1BBL構築體之活體內抗腫瘤功效

首先在腫瘤攜帶(N87攜帶) huCD16TgScid小鼠中，進行混合FAP-mu4-1BBL (抗-FAP、小鼠4-1BBL、人類IgG主鏈)及曲妥珠單抗之組合的概念驗證。

【0443】 最初自ATCC獲得N87細胞(Her2+人類胃癌瘤)且在擴增之後，寄存在Roche Glycart內部細胞庫中。於含有10% FCS及1% Glutamax之RPMI中培養細胞。在37℃下在5% CO_2下於水飽和氛圍中培養細胞。將在>95.0%之存活力下，於RPMI細胞培養基(Gibco)及GFR基質膠(1:1，總體積100 µl)中之5 × 10^6個細胞/動物，皮下注射至中動物之右側腹中。

【0444】 根據提交指南(GV-Solas; Felasa; TierschG)，以每天12 h光照/12 h黑暗之循環，將在實驗開始時8-10週齡之人類FcgRIIIa (CD16)轉殖基因SCID小鼠(其表現鼠類FcγRIV陽性巨噬細胞及人類FcγRIIIa陽性轉殖基因鼠類NK細胞兩者作為效應子) (在Charles River, France處培育)，維持在不含特定病原體的條件下。實驗研究方案經當地政府審查且批准。動物在到達之後維持一週以使其適應新環境且進行觀察。在常規基礎上進行連續健康監測。

【0445】 根據方案(**圖4A**)，當腫瘤大小達到大約220 mm^3 (第28天)時，如上文所描述對雌性huCD16TgScid小鼠皮下注射腫瘤細胞，且每週

使用化合物或PBS (媒劑)處理一次。對所有小鼠每週一次靜脈內注射200 µl之適當溶液。為了得到每200 µl適當量之化合物，必需時，用組胺酸緩衝液稀釋儲備溶液(表1)。對於使用曲妥珠單抗及FAP-4-1BBL構築體之組合療法(組D，**圖4B**)，同時注射療法。使用測徑規每週量測腫瘤生長兩次(**圖5A**及**圖5B**)，且如下計算腫瘤體積：

T_V：$(W^2/2) \times L$　　*(W：寬度，L：長度)*

【0446】 在八次注射化合物之後(在腫瘤細胞注射86天之後)，終止研究且處死所有小鼠。**圖5A**及**圖5B**顯示所有處理組中之腫瘤生長動力學(平均值+/- SEM)以及所有組之各動物的各別腫瘤生長動力學。混合FAP-mu4-1BBL之單藥療法不展現任何腫瘤生長抑制。在研究終止時，有一隻無腫瘤小鼠中，作為單藥療法給予之曲妥珠單抗誘導腫瘤停滯(TGI：95及TCR：0.35)。然而，曲妥珠單抗及混合FAP-mu4-1BBL之組合誘導強力腫瘤消退(TGI：132及TCR：0.09)，在第86天得到60%無腫瘤的小鼠。

【0447】 使用JMP軟體進行統計分析：

$$TGI: \frac{100 - Av\,(T_處理^{[X天]} - T_處理^{[基線]})}{Av\,(T_媒劑^{[X天]} - T_媒劑^{[基線]})} * 100$$

$$TCR: \frac{Av\,(T_處理^{[X天]})}{Av\,(T_媒劑^{[X天]})}$$

【0448】 基於研究之第59天之計算顯示於以下表9中。

表8：用於活體內實驗中之組合物

化合物	調配物緩衝液	濃度 (mg/mL)
FAP-mu4-1BBL	20mM組胺酸，140mM NaCl，pH6.0	5.33 (=儲備溶液)
曲妥珠單抗	20mM組胺酸，140mM NaCl，pH6.0	25 (=儲備溶液)

表9：在第59天之腫瘤生長抑制(TGI)及TCR

組	TGI	TCR
曲妥珠單抗	95	0.46
FAP-mu4-1BBL	-17	0.99
曲妥珠單抗+ FAP-mu4-1BBL	132	0.23

TGI：腫瘤生長抑制=>TGI>100意謂腫瘤消退，TGI=100意謂腫瘤停滯；

TCR：處理與對照比率=>TCR=1意謂無效果，TCR=0意謂完全腫瘤消退

【0449】

實例6

【0450】

CEA-4-1BBL抗原結合分子之製備、純化及表徵

如國際專利申請公開案第WO 2016/075278 A1號中所描述製備CEA-含靶向4-1BB配體三聚體之Fc融合抗原結合分子。

【0451】 特定言之，製備一價CEA-含靶向及非靶向4-1BB配體三聚體之融合抗原結合分子。

【0452】 將編碼與人類CL域融合之二聚4-1BB配體的多肽次選殖在杵上具有人類IgG1重鏈CH2及CH3域的框架中(Merchant, Zhu等人1998, Nature Biotechnol.16, 677-681)。將含有一個4-1BB配體胞外域之多肽與人類IgG1-CH1域融合。為了提高正確配對，另外將以下突變引入互換CH-CL（帶電變體)中：在與人類CL融合之二聚4-1BB配體中，引入E123R及Q124K，在與人類CH1融合之單體4-1BB配體中，引入K147E及K213E。

【0453】 將編碼對CEA具有特異性之結合子(純系T84.66-LCHA)

(CEACAM5)之重鏈及輕鏈DNA序列之可變區，次選殖在具有臼之恆定重鏈或人類IgG1之恆定輕鏈的框架中。根據WO 2012/130831中描述之方法，將Pro329Gly、Leu234Ala及Leu235Ala突變引入杵及臼重鏈之恆定區以消除與Fcγ受體之結合。含有S354C/T366W突變之二聚配體Fc杵鏈、單體CH1融合物、含有Y349C/T366S/L368A/Y407V突變之靶向抗CEA-Fc臼鏈及抗CEA輕鏈之組合，允許產生雜二聚體，其包括所組裝之三聚4-1BB配體及CEA結合Fab (類似於**圖1A**，抗-FAP經抗CEA置換)。

表10：一價構築體

	WO 2016/075278中之實例	包含
單CEA (T84.66-LCHA)-4-1BBL (帶電變體)	實例11.2.4 (構築體5.4)	SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42 SEQ ID NO:82及SEQ ID NO:83

【0454】 在WO 2016/075278之實例11至13中，分別詳細描述CEA-含靶向及非靶向4-1BB配體三聚體之Fc融合抗原結合分子的產生及表徵。

【序列表】

<110> 瑞士商赫孚孟拉羅股份公司(F. HOFFMANN-LA ROCHE AG)

<120> 使用靶向4-1BB (CD137)之促效劑的組合療法

<130> P34719-WO

<140> 108107979
<141> 2019-03-11

<150> EP18161340.7
<151> 2018-03-13

<160> 99

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 184
<212> PRT
<213> 智人

<400> 1

Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp
1 5 10 15

Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
20 25 30

Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
35 40 45

Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
50 55 60

Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
65 70 75 80

Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
85 90 95

Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
100 105 110

Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
115 120 125

Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val

130 135 140

His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
145 150 155 160

Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
165 170 175

Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
180

<210> 2
<211> 170
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2

Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val
1 5 10 15

Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala
20 25 30

Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu
35 40 45

Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu
50 55 60

Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala
65 70 75 80

Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala
85 90 95

Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala
100 105 110

Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu
115 120 125

Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu

130 135 140

Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile
145 150 155 160

Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
165 170

<210> 3
<211> 175
<212> PRT
<213> 智人

<400> 3

Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu
1 5 10 15

Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser
20 25 30

Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys
35 40 45

Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val
50 55 60

Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly
65 70 75 80

Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly
85 90 95

Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu
100 105 110

Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser
115 120 125

Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg
130 135 140

His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg

145 150 155 160

Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
165 170 175

<210> 4
<211> 203
<212> PRT
<213> 智人

<400> 4

Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala Ala Ser
1 5 10 15

Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly
20 25 30

Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn
35 40 45

Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu
50 55 60

Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys
65 70 75 80

Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu
85 90 95

Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu
100 105 110

Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu
115 120 125

Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser
130 135 140

Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg
145 150 155 160

Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln

165 170 175

Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu
180 185 190

Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
195 200

<210> 5
<211> 178
<212> PRT
<213> 智人

<400> 5

Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp
1 5 10 15

Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
20 25 30

Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
35 40 45

Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
50 55 60

Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
65 70 75 80

Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
85 90 95

Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
100 105 110

Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
115 120 125

Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
130 135 140

His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln

145 150 155 160

Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
165 170 175

Gly Leu

<210> 6
<211> 164
<212> PRT
<213> 智人

<400> 6

Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val
1 5 10 15

Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala
20 25 30

Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu
35 40 45

Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu
50 55 60

Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala
65 70 75 80

Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala
85 90 95

Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala
100 105 110

Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu
115 120 125

Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu
130 135 140

Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile

145 150 155 160

Pro Ala Gly Leu

<210> 7
<211> 169
<212> PRT
<213> 智人

<400> 7

Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu
1 5 10 15

Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser
20 25 30

Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys
35 40 45

Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val
50 55 60

Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly
65 70 75 80

Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly
85 90 95

Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu
100 105 110

Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser
115 120 125

Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg
130 135 140

His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg
145 150 155 160

Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu

<210> 8
<211> 197
<212> PRT
<213> 智人

<400> 8

Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala Ala Ser
1 5 10 15

Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly
20 25 30

Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn
35 40 45

Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu
50 55 60

Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys
65 70 75 80

Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu
85 90 95

Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu
100 105 110

Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu
115 120 125

Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser
130 135 140

Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg
145 150 155 160

Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln
165 170 175

Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu

180 185 190

Ile Pro Ala Gly Leu
195

<210> 9
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(28H1) CDR-H1

<400> 9

Ser His Ala Met Ser
1 5

<210> 10
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(28H1) CDR-H2

<400> 10

Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 11
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(28H1) CDR-H3

<400> 11

Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr
1 5

<210> 12
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> FAP(28H1) CDR-L1

<400> 12

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 13
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(28H1) CDR-L2

<400> 13

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr
1 5

<210> 14
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(28H1) CDR-L3

<400> 14

Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro Pro Thr
1 5

<210> 15
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(4B9) CDR-H1

<400> 15

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 16
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(4B9) CDR-H2

<400> 16

Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 17
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(4B9) CDR-H3

<400> 17

Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr
1 5

<210> 18
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(4B9) CDR-L1

<400> 18

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(4B9) CDR-L2

<400> 19

Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr
1 5

<210> 20
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(4B9) CDR-L3

<400> 20

Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro Pro Thr
1 5

<210> 21
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(28H1) VH

<400> 21

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 22
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(28H1) VL

<400> 22

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 23
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(4B9) VH

<400> 23

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 24
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FAP(4B9) VL

<400> 24

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 25
<211> 378
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 由(G4S)2連接子連接之二聚hu 4-1BBL (71-254)

<400> 25

Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp
1 5 10 15

Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
20 25 30

Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
35 40 45

Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
50 55 60

Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
65 70 75 80

Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
85 90 95

Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
100 105 110

Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
115 120 125

Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
130 135 140

His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
145 150 155 160

Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
165 170 175

Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
180 185 190

Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu
195 200 205

Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val
210 215 220

Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala
225 230 235 240

Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu
245 250 255

Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu
260 265 270

Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala
275 280 285

Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala
290 295 300

Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala
305 310 315 320

Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu
325 330 335

Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu
340 345 350

Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile
355 360 365

Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
370 375

<210> 26
<211> 350
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 由(G4S)2連接子連接之 聚hu 4-1BBL (85-254)

<400> 26

Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val
1 5 10 15

Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala
20 25 30

Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu
35 40 45

Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu
50 55 60

Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala
65 70 75 80

Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala
85 90 95

Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala
100 105 110

Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu
115 120 125

Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu
130 135 140

Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile
145 150 155 160

Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu Gly Gly Gly Gly Ser Gly
165 170 175

Gly Gly Gly Ser Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val
180 185 190

Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp
195 200 205

Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu
210 215 220

Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe
225 230 235 240

Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser
245 250 255

Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala
260 265 270

Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala
275 280 285

Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala
290 295 300

Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His
305 310 315 320

Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val
325 330 335

Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
340 345 350

<210> 27
<211> 360
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 由(G4S)2連接子連接之二聚hu 4-1BBL (80-254)

<400> 27

Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu
1 5 10 15

Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser
20 25 30

Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys
35 40 45

Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val
50 55 60

Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly
65 70 75 80

Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly
85 90 95

Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu
100 105 110

Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser
115 120 125

Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg
130 135 140

His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg
145 150 155 160

Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu Gly
165 170 175

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp
180 185 190

Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
195 200 205

Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
210 215 220

Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
225 230 235 240

Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
245 250 255

Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
260 265 270

Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
275 280 285

Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
290 295 300

Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
305 310 315 320

His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
325 330 335

Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
340 345 350

Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
355 360

<210> 28
<211> 416
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 由(G4S)2連接子連接之二聚hu 4-1BBL (52-254)

<400> 28

Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala Ala Ser
1 5 10 15

Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly

20 25 30

Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn
35 40 45

Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu
50 55 60

Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys
65 70 75 80

Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu
85 90 95

Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu
100 105 110

Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu
115 120 125

Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser
130 135 140

Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg
145 150 155 160

Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln
165 170 175

Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu
180 185 190

Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu Gly Gly Gly Gly Ser
195 200 205

Gly Gly Gly Gly Ser Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro
210 215 220

Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro
225 230 235 240

Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln
245 250 255

Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr
260 265 270

Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr
275 280 285

Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr
290 295 300

Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser
305 310 315 320

Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala
325 330 335

Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser
340 345 350

Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu
355 360 365

Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala
370 375 380

Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe
385 390 395 400

Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
405 410 415

<210> 29
<211> 366
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 由(G4S)2連接子連接之二聚hu 4-1BBL (71-248)

<400> 29

Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp

1 5 10 15

Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
20 25 30

Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
35 40 45

Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
50 55 60

Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
65 70 75 80

Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
85 90 95

Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
100 105 110

Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
115 120 125

Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
130 135 140

His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
145 150 155 160

Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
165 170 175

Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro
180 185 190

Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly
195 200 205

Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro
210 215 220

Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly
225 230 235 240

Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala
245 250 255

Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala
260 265 270

Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu
275 280 285

Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro
290 295 300

Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg
305 310 315 320

Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr
325 330 335

Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val
340 345 350

Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu
355 360 365

<210> 30
<211> 338
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 由(G4S)2連接子連接之二聚hu 4-1BBL (85-248)

<400> 30

Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val
1 5 10 15

Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala
20 25 30

Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu

35 40 45

Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu
50 55 60

Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala
65 70 75 80

Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala
85 90 95

Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala
100 105 110

Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu
115 120 125

Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu
130 135 140

Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile
145 150 155 160

Pro Ala Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Asp
165 170 175

Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
180 185 190

Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
195 200 205

Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
210 215 220

Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
225 230 235 240

Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
245 250 255

Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
260 265 270

Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
275 280 285

Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
290 295 300

His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
305 310 315 320

Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
325 330 335

Gly Leu

<210> 31
<211> 348
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 由(G4S)2連接子連接之二聚hu 4-1BBL (80-248)

<400> 31

Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu
1 5 10 15

Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser
20 25 30

Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys
35 40 45

Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val
50 55 60

Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly
65 70 75 80

Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly

85 90 95

Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu
100 105 110

Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser
115 120 125

Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg
130 135 140

His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg
145 150 155 160

Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
165 170 175

Gly Gly Ser Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe
180 185 190

Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser
195 200 205

Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu
210 215 220

Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val
225 230 235 240

Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu
245 250 255

Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser
260 265 270

Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala
275 280 285

Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu
290 295 300

His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala
305 310 315 320

Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly
325 330 335

Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu
340 345

<210> 32
<211> 404
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 由(G4S)2連接子連接之二聚hu 4-1BBL (52-248)

<400> 32

Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala Ala Ser
1 5 10 15

Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly
20 25 30

Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn
35 40 45

Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu
50 55 60

Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys
65 70 75 80

Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu
85 90 95

Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu
100 105 110

Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu
115 120 125

Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser

130 135 140

Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg
145 150 155 160

Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln
165 170 175

Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu
180 185 190

Ile Pro Ala Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Pro
195 200 205

Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro
210 215 220

Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu
225 230 235 240

Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val
245 250 255

Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala
260 265 270

Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu
275 280 285

Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu
290 295 300

Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala
305 310 315 320

Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala
325 330 335

Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala
340 345 350

Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu
355 360 365

Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu
370 375 380

Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile
385 390 395 400

Pro Ala Gly Leu

<210> 33
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA-HCDR1 (CEACAM5)

<400> 33

Asp Thr Tyr Met His
1 5

<210> 34
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA-HCDR2 (CEACAM5)

<400> 34

Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Val Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 35
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA-HCDR3 (CEACAM5)

<400> 35

Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr
1 5 10

<210> 36
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA-LCDR1 (CEACAM5)

<400> 36

Arg Ala Gly Glu Ser Val Asp Ile Phe Gly Val Gly Phe Leu His
1 5 10 15

<210> 37
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA-LCDR2 (CEACAM5)

<400> 37

Arg Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 38
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA-LCDR3 (CEACAM5)

<400> 38

Gln Gln Thr Asn Glu Asp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 39
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> CEA VH (CEACAM5)

<400> 39

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Val Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 40
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CEA VL (CEACAM5)

<400> 40

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Gly Glu Ser Val Asp Ile Phe
20 25 30

Gly Val Gly Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro

35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 41
<211> 710
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 二聚hu 4-1BBL (71-248) - CL* Fc杵鏈

<400> 41

Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp
1 5 10 15

Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
20 25 30

Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
35 40 45

Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
50 55 60

Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
65 70 75 80

Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
85 90 95

Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
100 105 110

Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
115 120 125

Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
130 135 140

His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
145 150 155 160

Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
165 170 175

Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro
180 185 190

Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly
195 200 205

Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro
210 215 220

Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly
225 230 235 240

Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala
245 250 255

Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala
260 265 270

Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu
275 280 285

Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro
290 295 300

Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg
305 310 315 320

Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr

325 330 335

Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val
340 345 350

Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Gly Gly
355 360 365

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
370 375 380

Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
385 390 395 400

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
405 410 415

Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val
420 425 430

Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu
435 440 445

Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu
450 455 460

Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg
465 470 475 480

Gly Glu Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
485 490 495

Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
500 505 510

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
515 520 525

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
530 535 540

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
545 550 555 560

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
565 570 575

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly
580 585 590

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
595 600 605

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
610 615 620

Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
625 630 635 640

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
645 650 655

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
660 665 670

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
675 680 685

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
690 695 700

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
705 710

<210> 42
<211> 291
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 單鏈hu 4-1BBL (71-248) - CH1*

<400> 42

Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp

1 5 10 15

Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
20 25 30

Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
35 40 45

Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
50 55 60

Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
65 70 75 80

Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
85 90 95

Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
100 105 110

Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
115 120 125

Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
130 135 140

His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
145 150 155 160

Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
165 170 175

Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ser Thr Lys
180 185 190

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
195 200 205

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
210 215 220

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
225 230 235 240

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
245 250 255

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
260 265 270

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro
275 280 285

Lys Ser Cys
290

<210> 43
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-FAP (4B9) Fc重鏈

<400> 43

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 44
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-FAP (4B9)輕鏈

<400> 44

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 45
<211> 722
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 二聚hu 4-1BBL (71-254) - CL* Fc杵鏈

<400> 45

Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp
1 5 10 15

Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
20 25 30

Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
35 40 45

Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
50 55 60

Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
65 70 75 80

Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
85 90 95

Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
100 105 110

Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
115 120 125

Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
130 135 140

His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
145 150 155 160

Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
165 170 175

Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
180 185 190

Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu
195 200 205

Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val
210 215 220

Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala

225 230 235 240

Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu
245 250 255

Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu
260 265 270

Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala
275 280 285

Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala
290 295 300

Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala
305 310 315 320

Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu
325 330 335

Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu
340 345 350

Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile
355 360 365

Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu Gly Gly Gly Gly Ser Gly
370 375 380

Gly Gly Gly Ser Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
385 390 395 400

Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
405 410 415

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
420 425 430

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
435 440 445

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
450 455 460

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
465 470 475 480

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Asp
485 490 495

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
500 505 510

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
515 520 525

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
530 535 540

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
545 550 555 560

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
565 570 575

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
580 585 590

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu
595 600 605

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
610 615 620

Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
625 630 635 640

Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
645 650 655

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
660 665 670

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
675 680 685

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
690 695 700

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
705 710 715 720

Gly Lys

<210> 46
<211> 297
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 單體hu 4-1BBL (71-254) -CH1*

<400> 46

Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp
1 5 10 15

Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu
20 25 30

Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
35 40 45

Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
50 55 60

Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
65 70 75 80

Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
85 90 95

Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
100 105 110

Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
115 120 125

Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
130 135 140

His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
145 150 155 160

Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
165 170 175

Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
180 185 190

Gly Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
195 200 205

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu
210 215 220

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
225 230 235 240

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
245 250 255

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
260 265 270

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
275 280 285

Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
290 295

<210> 47
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-FAP(28H1) Fc片鏈

<400> 47

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 48
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-FAP (28H1)輕鏈

<400> 48

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 49
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DP47 Fc序列鏈

<400> 49

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro

115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 50
<211> 834
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 與二聚hu 4-1BBL (71-254)融合之抗-FAP (4B9) Fc單鏈

<400> 50

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly
435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro
450 455 460

Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln
465 470 475 480

Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr
485 490 495

Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr
500 505 510

Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr
515 520 525

Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser
530 535 540

Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala
545 550 555 560

Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser
565 570 575

Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu
580 585 590

Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala
595 600 605

Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe
610 615 620

Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
625 630 635 640

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu
645 650 655

Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe
660 665 670

Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser
675 680 685

Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu
690 695 700

Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val
705 710 715 720

Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu
725 730 735

Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser
740 745 750

Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala
755 760 765

Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu
770 775 780

His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala
785 790 795 800

Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly
805 810 815

Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg
820 825 830

Ser Glu

<210> 51
<211> 640
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 與單體hu 4-1BBL (71-254)融合之抗-FAP (4B9) Fc異鏈

<400> 51

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly
435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro
450 455 460

Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln
465 470 475 480

Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr
485 490 495

Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr
500 505 510

Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr
515 520 525

Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser
530 535 540

Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala
545 550 555 560

Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser
565 570 575

Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu
580 585 590

Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala
595 600 605

Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe
610 615 620

Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
625 630 635 640

<210> 52
<211> 833
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 與二聚hu 4-1BBL (71-254)融合之抗-FAP (28H1) Fc單鏈

<400> 52

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
435 440 445

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp
450 455 460

Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu
465 470 475 480

Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser
485 490 495

Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys
500 505 510

Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val
515 520 525

Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly
530 535 540

Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly
545 550 555 560

Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu
565 570 575

Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser
580 585 590

Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg
595 600 605

His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg
610 615 620

Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu Gly
625 630 635 640

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser
645 650 655

Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala
660 665 670

Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp
675 680 685

Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser
690 695 700

Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr
705 710 715 720

Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly
725 730 735

Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala
740 745 750

Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser
755 760 765

Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His
770 775 780

Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg
785 790 795 800

Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu
805 810 815

Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser
820 825 830

Glu

<210> 53
<211> 639
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 與單鏈hu 4-1BBL (71-254)融合之抗-FAP (28H1) Fc杵鏈

<400> 53

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
435 440 445

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp
450 455 460

Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu
465 470 475 480

Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser
485 490 495

Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys
500 505 510

Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val
515 520 525

Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly
530 535 540

Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly
545 550 555 560

Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu
565 570 575

Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser
580 585 590

Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg
595 600 605

His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg
610 615 620

Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
625 630 635

<210> 54
<211> 834
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 與二聚hu 4-1BBL (71-254)融合之DP47 Fc中鏈

<400> 54

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly
435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro
450 455 460

Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln
465 470 475 480

Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr
485 490 495

Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr
500 505 510

Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr
515 520 525

Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser
530 535 540

Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala
545 550 555 560

Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser
565 570 575

Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu
580 585 590

Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala
595 600 605

Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe
610 615 620

Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
625 630 635 640

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu
645 650 655

Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe
660 665 670

Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser
675 680 685

Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu
690 695 700

Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val
705 710 715 720

Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu
725 730 735

Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser
740 745 750

Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala
755 760 765

Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu
770 775 780

His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala
785 790 795 800

Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly
805 810 815

Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg
820 825 830

Ser Glu

<210> 55
<211> 640
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 與單鏈hu 4-1BBL (71-254)融合之DP47 Fc杵鏈

<400> 55

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly

435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro
450 455 460

Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln
465 470 475 480

Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr
485 490 495

Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr
500 505 510

Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr
515 520 525

Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser
530 535 540

Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala
545 550 555 560

Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser
565 570 575

Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu
580 585 590

Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala
595 600 605

Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe
610 615 620

Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
625 630 635 640

<210> 56
<211> 760
<212> PRT
<213> 智人

<400> 56

Met Lys Thr Trp Val Lys Ile Val Phe Gly Val Ala Thr Ser Ala Val
1 5 10 15

Leu Ala Leu Leu Val Met Cys Ile Val Leu Arg Pro Ser Arg Val His
20 25 30

Asn Ser Glu Glu Asn Thr Met Arg Ala Leu Thr Leu Lys Asp Ile Leu
35 40 45

Asn Gly Thr Phe Ser Tyr Lys Thr Phe Phe Pro Asn Trp Ile Ser Gly
50 55 60

Gln Glu Tyr Leu His Gln Ser Ala Asp Asn Asn Ile Val Leu Tyr Asn
65 70 75 80

Ile Glu Thr Gly Gln Ser Tyr Thr Ile Leu Ser Asn Arg Thr Met Lys
85 90 95

Ser Val Asn Ala Ser Asn Tyr Gly Leu Ser Pro Asp Arg Gln Phe Val
100 105 110

Tyr Leu Glu Ser Asp Tyr Ser Lys Leu Trp Arg Tyr Ser Tyr Thr Ala
115 120 125

Thr Tyr Tyr Ile Tyr Asp Leu Ser Asn Gly Glu Phe Val Arg Gly Asn
130 135 140

Glu Leu Pro Arg Pro Ile Gln Tyr Leu Cys Trp Ser Pro Val Gly Ser
145 150 155 160

Lys Leu Ala Tyr Val Tyr Gln Asn Asn Ile Tyr Leu Lys Gln Arg Pro
165 170 175

Gly Asp Pro Pro Phe Gln Ile Thr Phe Asn Gly Arg Glu Asn Lys Ile
180 185 190

Phe Asn Gly Ile Pro Asp Trp Val Tyr Glu Glu Glu Met Leu Ala Thr
195 200 205

Lys Tyr Ala Leu Trp Trp Ser Pro Asn Gly Lys Phe Leu Ala Tyr Ala
210 215 220

Glu Phe Asn Asp Thr Asp Ile Pro Val Ile Ala Tyr Ser Tyr Tyr Gly
225 230 235 240

Asp Glu Gln Tyr Pro Arg Thr Ile Asn Ile Pro Tyr Pro Lys Ala Gly
245 250 255

Ala Lys Asn Pro Val Val Arg Ile Phe Ile Ile Asp Thr Thr Tyr Pro
260 265 270

Ala Tyr Val Gly Pro Gln Glu Val Pro Val Pro Ala Met Ile Ala Ser
275 280 285

Ser Asp Tyr Tyr Phe Ser Trp Leu Thr Trp Val Thr Asp Glu Arg Val
290 295 300

Cys Leu Gln Trp Leu Lys Arg Val Gln Asn Val Ser Val Leu Ser Ile
305 310 315 320

Cys Asp Phe Arg Glu Asp Trp Gln Thr Trp Asp Cys Pro Lys Thr Gln
325 330 335

Glu His Ile Glu Glu Ser Arg Thr Gly Trp Ala Gly Gly Phe Phe Val
340 345 350

Ser Thr Pro Val Phe Ser Tyr Asp Ala Ile Ser Tyr Tyr Lys Ile Phe
355 360 365

Ser Asp Lys Asp Gly Tyr Lys His Ile His Tyr Ile Lys Asp Thr Val
370 375 380

Glu Asn Ala Ile Gln Ile Thr Ser Gly Lys Trp Glu Ala Ile Asn Ile
385 390 395 400

Phe Arg Val Thr Gln Asp Ser Leu Phe Tyr Ser Ser Asn Glu Phe Glu
405 410 415

Glu Tyr Pro Gly Arg Arg Asn Ile Tyr Arg Ile Ser Ile Gly Ser Tyr
420 425 430

Pro Pro Ser Lys Lys Cys Val Thr Cys His Leu Arg Lys Glu Arg Cys
435 440 445

Gln Tyr Tyr Thr Ala Ser Phe Ser Asp Tyr Ala Lys Tyr Tyr Ala Leu
450 455 460

Val Cys Tyr Gly Pro Gly Ile Pro Ile Ser Thr Leu His Asp Gly Arg
465 470 475 480

Thr Asp Gln Glu Ile Lys Ile Leu Glu Glu Asn Lys Glu Leu Glu Asn
485 490 495

Ala Leu Lys Asn Ile Gln Leu Pro Lys Glu Glu Ile Lys Lys Leu Glu
500 505 510

Val Asp Glu Ile Thr Leu Trp Tyr Lys Met Ile Leu Pro Pro Gln Phe
515 520 525

Asp Arg Ser Lys Lys Tyr Pro Leu Leu Ile Gln Val Tyr Gly Gly Pro
530 535 540

Cys Ser Gln Ser Val Arg Ser Val Phe Ala Val Asn Trp Ile Ser Tyr
545 550 555 560

Leu Ala Ser Lys Glu Gly Met Val Ile Ala Leu Val Asp Gly Arg Gly
565 570 575

Thr Ala Phe Gln Gly Asp Lys Leu Leu Tyr Ala Val Tyr Arg Lys Leu
580 585 590

Gly Val Tyr Glu Val Glu Asp Gln Ile Thr Ala Val Arg Lys Phe Ile
595 600 605

Glu Met Gly Phe Ile Asp Glu Lys Arg Ile Ala Ile Trp Gly Trp Ser
610 615 620

Tyr Gly Gly Tyr Val Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ser Gly Thr Gly Leu
625 630 635 640

Phe Lys Cys Gly Ile Ala Val Ala Pro Val Ser Ser Trp Glu Tyr Tyr
645 650 655

Ala Ser Val Tyr Thr Glu Arg Phe Met Gly Leu Pro Thr Lys Asp Asp
660 665 670

Asn Leu Glu His Tyr Lys Asn Ser Thr Val Met Ala Arg Ala Glu Tyr
675 680 685

Phe Arg Asn Val Asp Tyr Leu Leu Ile His Gly Thr Ala Asp Asp Asn
690 695 700

Val His Phe Gln Asn Ser Ala Gln Ile Ala Lys Ala Leu Val Asn Ala
705 710 715 720

Gln Val Asp Phe Gln Ala Met Trp Tyr Ser Asp Gln Asn His Gly Leu
725 730 735

Ser Gly Leu Ser Thr Asn His Leu Tyr Thr His Met Thr His Phe Leu
740 745 750

Lys Gln Cys Phe Ser Leu Ser Asp
755 760

<210> 57
<211> 748
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hu FAP胞外域+聚lys標記+his6標記

<400> 57

Arg Pro Ser Arg Val His Asn Ser Glu Glu Asn Thr Met Arg Ala Leu
1 5 10 15

Thr Leu Lys Asp Ile Leu Asn Gly Thr Phe Ser Tyr Lys Thr Phe Phe
20 25 30

Pro Asn Trp Ile Ser Gly Gln Glu Tyr Leu His Gln Ser Ala Asp Asn
35 40 45

Asn Ile Val Leu Tyr Asn Ile Glu Thr Gly Gln Ser Tyr Thr Ile Leu
50 55 60

Ser Asn Arg Thr Met Lys Ser Val Asn Ala Ser Asn Tyr Gly Leu Ser
65 70 75 80

Pro Asp Arg Gln Phe Val Tyr Leu Glu Ser Asp Tyr Ser Lys Leu Trp
85 90 95

Arg Tyr Ser Tyr Thr Ala Thr Tyr Tyr Ile Tyr Asp Leu Ser Asn Gly
100 105 110

Glu Phe Val Arg Gly Asn Glu Leu Pro Arg Pro Ile Gln Tyr Leu Cys
115 120 125

Trp Ser Pro Val Gly Ser Lys Leu Ala Tyr Val Tyr Gln Asn Asn Ile
130 135 140

Tyr Leu Lys Gln Arg Pro Gly Asp Pro Pro Phe Gln Ile Thr Phe Asn
145 150 155 160

Gly Arg Glu Asn Lys Ile Phe Asn Gly Ile Pro Asp Trp Val Tyr Glu
165 170 175

Glu Glu Met Leu Ala Thr Lys Tyr Ala Leu Trp Trp Ser Pro Asn Gly
180 185 190

Lys Phe Leu Ala Tyr Ala Glu Phe Asn Asp Thr Asp Ile Pro Val Ile
195 200 205

Ala Tyr Ser Tyr Tyr Gly Asp Glu Gln Tyr Pro Arg Thr Ile Asn Ile
210 215 220

Pro Tyr Pro Lys Ala Gly Ala Lys Asn Pro Val Val Arg Ile Phe Ile
225 230 235 240

Ile Asp Thr Thr Tyr Pro Ala Tyr Val Gly Pro Gln Glu Val Pro Val
245 250 255

Pro Ala Met Ile Ala Ser Ser Asp Tyr Tyr Phe Ser Trp Leu Thr Trp
260 265 270

Val Thr Asp Glu Arg Val Cys Leu Gln Trp Leu Lys Arg Val Gln Asn
275 280 285

Val Ser Val Leu Ser Ile Cys Asp Phe Arg Glu Asp Trp Gln Thr Trp
290 295 300

Asp Cys Pro Lys Thr Gln Glu His Ile Glu Glu Ser Arg Thr Gly Trp
305 310 315 320

Ala Gly Gly Phe Phe Val Ser Thr Pro Val Phe Ser Tyr Asp Ala Ile
325 330 335

Ser Tyr Tyr Lys Ile Phe Ser Asp Lys Asp Gly Tyr Lys His Ile His
340 345 350

Tyr Ile Lys Asp Thr Val Glu Asn Ala Ile Gln Ile Thr Ser Gly Lys
355 360 365

Trp Glu Ala Ile Asn Ile Phe Arg Val Thr Gln Asp Ser Leu Phe Tyr
370 375 380

Ser Ser Asn Glu Phe Glu Glu Tyr Pro Gly Arg Arg Asn Ile Tyr Arg
385 390 395 400

Ile Ser Ile Gly Ser Tyr Pro Pro Ser Lys Lys Cys Val Thr Cys His
405 410 415

Leu Arg Lys Glu Arg Cys Gln Tyr Tyr Thr Ala Ser Phe Ser Asp Tyr
420 425 430

Ala Lys Tyr Tyr Ala Leu Val Cys Tyr Gly Pro Gly Ile Pro Ile Ser
435 440 445

Thr Leu His Asp Gly Arg Thr Asp Gln Glu Ile Lys Ile Leu Glu Glu
450 455 460

Asn Lys Glu Leu Glu Asn Ala Leu Lys Asn Ile Gln Leu Pro Lys Glu
465 470 475 480

Glu Ile Lys Lys Leu Glu Val Asp Glu Ile Thr Leu Trp Tyr Lys Met
485 490 495

Ile Leu Pro Pro Gln Phe Asp Arg Ser Lys Lys Tyr Pro Leu Leu Ile

500 505 510

Gln Val Tyr Gly Gly Pro Cys Ser Gln Ser Val Arg Ser Val Phe Ala
515 520 525

Val Asn Trp Ile Ser Tyr Leu Ala Ser Lys Glu Gly Met Val Ile Ala
530 535 540

Leu Val Asp Gly Arg Gly Thr Ala Phe Gln Gly Asp Lys Leu Leu Tyr
545 550 555 560

Ala Val Tyr Arg Lys Leu Gly Val Tyr Glu Val Glu Asp Gln Ile Thr
565 570 575

Ala Val Arg Lys Phe Ile Glu Met Gly Phe Ile Asp Glu Lys Arg Ile
580 585 590

Ala Ile Trp Gly Trp Ser Tyr Gly Gly Tyr Val Ser Ser Leu Ala Leu
595 600 605

Ala Ser Gly Thr Gly Leu Phe Lys Cys Gly Ile Ala Val Ala Pro Val
610 615 620

Ser Ser Trp Glu Tyr Tyr Ala Ser Val Tyr Thr Glu Arg Phe Met Gly
625 630 635 640

Leu Pro Thr Lys Asp Asp Asn Leu Glu His Tyr Lys Asn Ser Thr Val
645 650 655

Met Ala Arg Ala Glu Tyr Phe Arg Asn Val Asp Tyr Leu Leu Ile His
660 665 670

Gly Thr Ala Asp Asp Asn Val His Phe Gln Asn Ser Ala Gln Ile Ala
675 680 685

Lys Ala Leu Val Asn Ala Gln Val Asp Phe Gln Ala Met Trp Tyr Ser
690 695 700

Asp Gln Asn His Gly Leu Ser Gly Leu Ser Thr Asn His Leu Tyr Thr
705 710 715 720

His Met Thr His Phe Leu Lys Gln Cys Phe Ser Leu Ser Asp Gly Lys
725 730 735

Lys Lys Lys Lys Lys Gly His His His His His His
740 745

<210> 58
<211> 761
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 58

Met Lys Thr Trp Leu Lys Thr Val Phe Gly Val Thr Thr Leu Ala Ala
1 5 10 15

Leu Ala Leu Val Val Ile Cys Ile Val Leu Arg Pro Ser Arg Val Tyr
20 25 30

Lys Pro Glu Gly Asn Thr Lys Arg Ala Leu Thr Leu Lys Asp Ile Leu
35 40 45

Asn Gly Thr Phe Ser Tyr Lys Thr Tyr Phe Pro Asn Trp Ile Ser Glu
50 55 60

Gln Glu Tyr Leu His Gln Ser Glu Asp Asp Asn Ile Val Phe Tyr Asn
65 70 75 80

Ile Glu Thr Arg Glu Ser Tyr Ile Ile Leu Ser Asn Ser Thr Met Lys
85 90 95

Ser Val Asn Ala Thr Asp Tyr Gly Leu Ser Pro Asp Arg Gln Phe Val
100 105 110

Tyr Leu Glu Ser Asp Tyr Ser Lys Leu Trp Arg Tyr Ser Tyr Thr Ala
115 120 125

Thr Tyr Tyr Ile Tyr Asp Leu Gln Asn Gly Glu Phe Val Arg Gly Tyr
130 135 140

Glu Leu Pro Arg Pro Ile Gln Tyr Leu Cys Trp Ser Pro Val Gly Ser
145 150 155 160

Lys Leu Ala Tyr Val Tyr Gln Asn Asn Ile Tyr Leu Lys Gln Arg Pro
165 170 175

Gly Asp Pro Pro Phe Gln Ile Thr Tyr Thr Gly Arg Glu Asn Arg Ile
180 185 190

Phe Asn Gly Ile Pro Asp Trp Val Tyr Glu Glu Glu Met Leu Ala Thr
195 200 205

Lys Tyr Ala Leu Trp Trp Ser Pro Asp Gly Lys Phe Leu Ala Tyr Val
210 215 220

Glu Phe Asn Asp Ser Asp Ile Pro Ile Ile Ala Tyr Ser Tyr Tyr Gly
225 230 235 240

Asp Gly Gln Tyr Pro Arg Thr Ile Asn Ile Pro Tyr Pro Lys Ala Gly
245 250 255

Ala Lys Asn Pro Val Val Arg Val Phe Ile Val Asp Thr Thr Tyr Pro
260 265 270

His His Val Gly Pro Met Glu Val Pro Val Pro Glu Met Ile Ala Ser
275 280 285

Ser Asp Tyr Tyr Phe Ser Trp Leu Thr Trp Val Ser Ser Glu Arg Val
290 295 300

Cys Leu Gln Trp Leu Lys Arg Val Gln Asn Val Ser Val Leu Ser Ile
305 310 315 320

Cys Asp Phe Arg Glu Asp Trp His Ala Trp Glu Cys Pro Lys Asn Gln
325 330 335

Glu His Val Glu Glu Ser Arg Thr Gly Trp Ala Gly Gly Phe Phe Val
340 345 350

Ser Thr Pro Ala Phe Ser Gln Asp Ala Thr Ser Tyr Tyr Lys Ile Phe
355 360 365

Ser Asp Lys Asp Gly Tyr Lys His Ile His Tyr Ile Lys Asp Thr Val
370 375 380

Glu Asn Ala Ile Gln Ile Thr Ser Gly Lys Trp Glu Ala Ile Tyr Ile
385 390 395 400

Phe Arg Val Thr Gln Asp Ser Leu Phe Tyr Ser Ser Asn Glu Phe Glu
405 410 415

Gly Tyr Pro Gly Arg Arg Asn Ile Tyr Arg Ile Ser Ile Gly Asn Ser
420 425 430

Pro Pro Ser Lys Lys Cys Val Thr Cys His Leu Arg Lys Glu Arg Cys
435 440 445

Gln Tyr Tyr Thr Ala Ser Phe Ser Tyr Lys Ala Lys Tyr Tyr Ala Leu
450 455 460

Val Cys Tyr Gly Pro Gly Leu Pro Ile Ser Thr Leu His Asp Gly Arg
465 470 475 480

Thr Asp Gln Glu Ile Gln Val Leu Glu Glu Asn Lys Glu Leu Glu Asn
485 490 495

Ser Leu Arg Asn Ile Gln Leu Pro Lys Val Glu Ile Lys Lys Leu Lys
500 505 510

Asp Gly Gly Leu Thr Phe Trp Tyr Lys Met Ile Leu Pro Pro Gln Phe
515 520 525

Asp Arg Ser Lys Lys Tyr Pro Leu Leu Ile Gln Val Tyr Gly Gly Pro
530 535 540

Cys Ser Gln Ser Val Lys Ser Val Phe Ala Val Asn Trp Ile Thr Tyr
545 550 555 560

Leu Ala Ser Lys Glu Gly Ile Val Ile Ala Leu Val Asp Gly Arg Gly
565 570 575

Thr Ala Phe Gln Gly Asp Lys Phe Leu His Ala Val Tyr Arg Lys Leu
580 585 590

Gly Val Tyr Glu Val Glu Asp Gln Leu Thr Ala Val Arg Lys Phe Ile
595 600 605

Glu Met Gly Phe Ile Asp Glu Glu Arg Ile Ala Ile Trp Gly Trp Ser
610 615 620

Tyr Gly Gly Tyr Val Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ser Gly Thr Gly Leu
625 630 635 640

Phe Lys Cys Gly Ile Ala Val Ala Pro Val Ser Ser Trp Glu Tyr Tyr
645 650 655

Ala Ser Ile Tyr Ser Glu Arg Phe Met Gly Leu Pro Thr Lys Asp Asp
660 665 670

Asn Leu Glu His Tyr Lys Asn Ser Thr Val Met Ala Arg Ala Glu Tyr
675 680 685

Phe Arg Asn Val Asp Tyr Leu Leu Ile His Gly Thr Ala Asp Asp Asn
690 695 700

Val His Phe Gln Asn Ser Ala Gln Ile Ala Lys Ala Leu Val Asn Ala
705 710 715 720

Gln Val Asp Phe Gln Ala Met Trp Tyr Ser Asp Gln Asn His Gly Ile
725 730 735

Ser Ser Gly Arg Ser Gln Asn His Leu Tyr Thr His Met Thr His Phe
740 745 750

Leu Lys Gln Cys Phe Ser Leu Ser Asp
755 760

<210> 59
<211> 749
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鼠類FAP胞外域+聚lys標記+his6標記

<400> 59

Arg Pro Ser Arg Val Tyr Lys Pro Glu Gly Asn Thr Lys Arg Ala Leu
1 5 10 15

Thr Leu Lys Asp Ile Leu Asn Gly Thr Phe Ser Tyr Lys Thr Tyr Phe
20 25 30

Pro Asn Trp Ile Ser Glu Gln Glu Tyr Leu His Gln Ser Glu Asp Asp
35 40 45

Asn Ile Val Phe Tyr Asn Ile Glu Thr Arg Glu Ser Tyr Ile Ile Leu
50 55 60

Ser Asn Ser Thr Met Lys Ser Val Asn Ala Thr Asp Tyr Gly Leu Ser
65 70 75 80

Pro Asp Arg Gln Phe Val Tyr Leu Glu Ser Asp Tyr Ser Lys Leu Trp
85 90 95

Arg Tyr Ser Tyr Thr Ala Thr Tyr Tyr Ile Tyr Asp Leu Gln Asn Gly
100 105 110

Glu Phe Val Arg Gly Tyr Glu Leu Pro Arg Pro Ile Gln Tyr Leu Cys
115 120 125

Trp Ser Pro Val Gly Ser Lys Leu Ala Tyr Val Tyr Gln Asn Asn Ile
130 135 140

Tyr Leu Lys Gln Arg Pro Gly Asp Pro Pro Phe Gln Ile Thr Tyr Thr
145 150 155 160

Gly Arg Glu Asn Arg Ile Phe Asn Gly Ile Pro Asp Trp Val Tyr Glu
165 170 175

Glu Glu Met Leu Ala Thr Lys Tyr Ala Leu Trp Trp Ser Pro Asp Gly
180 185 190

Lys Phe Leu Ala Tyr Val Glu Phe Asn Asp Ser Asp Ile Pro Ile Ile
195 200 205

Ala Tyr Ser Tyr Tyr Gly Asp Gly Gln Tyr Pro Arg Thr Ile Asn Ile
210 215 220

Pro Tyr Pro Lys Ala Gly Ala Lys Asn Pro Val Val Arg Val Phe Ile
225 230 235 240

Val Asp Thr Thr Tyr Pro His His Val Gly Pro Met Glu Val Pro Val
245 250 255

Pro Glu Met Ile Ala Ser Ser Asp Tyr Tyr Phe Ser Trp Leu Thr Trp
260 265 270

Val Ser Ser Glu Arg Val Cys Leu Gln Trp Leu Lys Arg Val Gln Asn
275 280 285

Val Ser Val Leu Ser Ile Cys Asp Phe Arg Glu Asp Trp His Ala Trp
290 295 300

Glu Cys Pro Lys Asn Gln Glu His Val Glu Glu Ser Arg Thr Gly Trp
305 310 315 320

Ala Gly Gly Phe Phe Val Ser Thr Pro Ala Phe Ser Gln Asp Ala Thr
325 330 335

Ser Tyr Tyr Lys Ile Phe Ser Asp Lys Asp Gly Tyr Lys His Ile His
340 345 350

Tyr Ile Lys Asp Thr Val Glu Asn Ala Ile Gln Ile Thr Ser Gly Lys
355 360 365

Trp Glu Ala Ile Tyr Ile Phe Arg Val Thr Gln Asp Ser Leu Phe Tyr
370 375 380

Ser Ser Asn Glu Phe Glu Gly Tyr Pro Gly Arg Arg Asn Ile Tyr Arg
385 390 395 400

Ile Ser Ile Gly Asn Ser Pro Pro Ser Lys Lys Cys Val Thr Cys His
405 410 415

Leu Arg Lys Glu Arg Cys Gln Tyr Tyr Thr Ala Ser Phe Ser Tyr Lys
420 425 430

Ala Lys Tyr Tyr Ala Leu Val Cys Tyr Gly Pro Gly Leu Pro Ile Ser
435 440 445

Thr Leu His Asp Gly Arg Thr Asp Gln Glu Ile Gln Val Leu Glu Glu

450 455 460

Asn Lys Glu Leu Glu Asn Ser Leu Arg Asn Ile Gln Leu Pro Lys Val
465 470 475 480

Glu Ile Lys Lys Leu Lys Asp Gly Gly Leu Thr Phe Trp Tyr Lys Met
485 490 495

Ile Leu Pro Pro Gln Phe Asp Arg Ser Lys Lys Tyr Pro Leu Leu Ile
500 505 510

Gln Val Tyr Gly Gly Pro Cys Ser Gln Ser Val Lys Ser Val Phe Ala
515 520 525

Val Asn Trp Ile Thr Tyr Leu Ala Ser Lys Glu Gly Ile Val Ile Ala
530 535 540

Leu Val Asp Gly Arg Gly Thr Ala Phe Gln Gly Asp Lys Phe Leu His
545 550 555 560

Ala Val Tyr Arg Lys Leu Gly Val Tyr Glu Val Glu Asp Gln Leu Thr
565 570 575

Ala Val Arg Lys Phe Ile Glu Met Gly Phe Ile Asp Glu Glu Arg Ile
580 585 590

Ala Ile Trp Gly Trp Ser Tyr Gly Gly Tyr Val Ser Ser Leu Ala Leu
595 600 605

Ala Ser Gly Thr Gly Leu Phe Lys Cys Gly Ile Ala Val Ala Pro Val
610 615 620

Ser Ser Trp Glu Tyr Tyr Ala Ser Ile Tyr Ser Glu Arg Phe Met Gly
625 630 635 640

Leu Pro Thr Lys Asp Asp Asn Leu Glu His Tyr Lys Asn Ser Thr Val
645 650 655

Met Ala Arg Ala Glu Tyr Phe Arg Asn Val Asp Tyr Leu Leu Ile His
660 665 670

Gly Thr Ala Asp Asp Asn Val His Phe Gln Asn Ser Ala Gln Ile Ala
675 680 685

Lys Ala Leu Val Asn Ala Gln Val Asp Phe Gln Ala Met Trp Tyr Ser
690 695 700

Asp Gln Asn His Gly Ile Leu Ser Gly Arg Ser Gln Asn His Leu Tyr
705 710 715 720

Thr His Met Thr His Phe Leu Lys Gln Cys Phe Ser Leu Ser Asp Gly
725 730 735

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Gly His His His His His His
740 745

<210> 60
<211> 748
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 食蟹獼猴FAP胞外域+聚lys標記+his6標記

<400> 60

Arg Pro Pro Arg Val His Asn Ser Glu Glu Asn Thr Met Arg Ala Leu
1 5 10 15

Thr Leu Lys Asp Ile Leu Asn Gly Thr Phe Ser Tyr Lys Thr Phe Phe
20 25 30

Pro Asn Trp Ile Ser Gly Gln Glu Tyr Leu His Gln Ser Ala Asp Asn
35 40 45

Asn Ile Val Leu Tyr Asn Ile Glu Thr Gly Gln Ser Tyr Thr Ile Leu
50 55 60

Ser Asn Arg Thr Met Lys Ser Val Asn Ala Ser Asn Tyr Gly Leu Ser
65 70 75 80

Pro Asp Arg Gln Phe Val Tyr Leu Glu Ser Asp Tyr Ser Lys Leu Trp
85 90 95

Arg Tyr Ser Tyr Thr Ala Thr Tyr Tyr Ile Tyr Asp Leu Ser Asn Gly

100 105 110

Glu Phe Val Arg Gly Asn Glu Leu Pro Arg Pro Ile Gln Tyr Leu Cys
115 120 125

Trp Ser Pro Val Gly Ser Lys Leu Ala Tyr Val Tyr Gln Asn Asn Ile
130 135 140

Tyr Leu Lys Gln Arg Pro Gly Asp Pro Pro Phe Gln Ile Thr Phe Asn
145 150 155 160

Gly Arg Glu Asn Lys Ile Phe Asn Gly Ile Pro Asp Trp Val Tyr Glu
165 170 175

Glu Glu Met Leu Ala Thr Lys Tyr Ala Leu Trp Trp Ser Pro Asn Gly
180 185 190

Lys Phe Leu Ala Tyr Ala Glu Phe Asn Asp Thr Asp Ile Pro Val Ile
195 200 205

Ala Tyr Ser Tyr Tyr Gly Asp Glu Gln Tyr Pro Arg Thr Ile Asn Ile
210 215 220

Pro Tyr Pro Lys Ala Gly Ala Lys Asn Pro Phe Val Arg Ile Phe Ile
225 230 235 240

Ile Asp Thr Thr Tyr Pro Ala Tyr Val Gly Pro Gln Glu Val Pro Val
245 250 255

Pro Ala Met Ile Ala Ser Ser Asp Tyr Tyr Phe Ser Trp Leu Thr Trp
260 265 270

Val Thr Asp Glu Arg Val Cys Leu Gln Trp Leu Lys Arg Val Gln Asn
275 280 285

Val Ser Val Leu Ser Ile Cys Asp Phe Arg Glu Asp Trp Gln Thr Trp
290 295 300

Asp Cys Pro Lys Thr Gln Glu His Ile Glu Glu Ser Arg Thr Gly Trp
305 310 315 320

Ala Gly Gly Phe Phe Val Ser Thr Pro Val Phe Ser Tyr Asp Ala Ile
325 330 335

Ser Tyr Tyr Lys Ile Phe Ser Asp Lys Asp Gly Tyr Lys His Ile His
340 345 350

Tyr Ile Lys Asp Thr Val Glu Asn Ala Ile Gln Ile Thr Ser Gly Lys
355 360 365

Trp Glu Ala Ile Asn Ile Phe Arg Val Thr Gln Asp Ser Leu Phe Tyr
370 375 380

Ser Ser Asn Glu Phe Glu Asp Tyr Pro Gly Arg Arg Asn Ile Tyr Arg
385 390 395 400

Ile Ser Ile Gly Ser Tyr Pro Pro Ser Lys Lys Cys Val Thr Cys His
405 410 415

Leu Arg Lys Glu Arg Cys Gln Tyr Tyr Thr Ala Ser Phe Ser Asp Tyr
420 425 430

Ala Lys Tyr Tyr Ala Leu Val Cys Tyr Gly Pro Gly Ile Pro Ile Ser
435 440 445

Thr Leu His Asp Gly Arg Thr Asp Gln Glu Ile Lys Ile Leu Glu Glu
450 455 460

Asn Lys Glu Leu Glu Asn Ala Leu Lys Asn Ile Gln Leu Pro Lys Glu
465 470 475 480

Glu Ile Lys Lys Leu Glu Val Asp Glu Ile Thr Leu Trp Tyr Lys Met
485 490 495

Ile Leu Pro Pro Gln Phe Asp Arg Ser Lys Lys Tyr Pro Leu Leu Ile
500 505 510

Gln Val Tyr Gly Gly Pro Cys Ser Gln Ser Val Arg Ser Val Phe Ala
515 520 525

Val Asn Trp Ile Ser Tyr Leu Ala Ser Lys Glu Gly Met Val Ile Ala
530 535 540

Leu Val Asp Gly Arg Gly Thr Ala Phe Gln Gly Asp Lys Leu Leu Tyr
545 550 555 560

Ala Val Tyr Arg Lys Leu Gly Val Tyr Glu Val Glu Asp Gln Ile Thr
565 570 575

Ala Val Arg Lys Phe Ile Glu Met Gly Phe Ile Asp Glu Lys Arg Ile
580 585 590

Ala Ile Trp Gly Trp Ser Tyr Gly Gly Tyr Val Ser Ser Leu Ala Leu
595 600 605

Ala Ser Gly Thr Gly Leu Phe Lys Cys Gly Ile Ala Val Ala Pro Val
610 615 620

Ser Ser Trp Glu Tyr Tyr Ala Ser Val Tyr Thr Glu Arg Phe Met Gly
625 630 635 640

Leu Pro Thr Lys Asp Asp Asn Leu Glu His Tyr Lys Asn Ser Thr Val
645 650 655

Met Ala Arg Ala Glu Tyr Phe Arg Asn Val Asp Tyr Leu Leu Ile His
660 665 670

Gly Thr Ala Asp Asp Asn Val His Phe Gln Asn Ser Ala Gln Ile Ala
675 680 685

Lys Ala Leu Val Asn Ala Gln Val Asp Phe Gln Ala Met Trp Tyr Ser
690 695 700

Asp Gln Asn His Gly Leu Ser Gly Leu Ser Thr Asn His Leu Tyr Thr
705 710 715 720

His Met Thr His Phe Leu Lys Gln Cys Phe Ser Leu Ser Asp Gly Lys
725 730 735

Lys Lys Lys Lys Lys Gly His His His His His His
740 745

<210> 61
<211> 702

<212> PRT
<213> 智人

<400> 61

Met Glu Ser Pro Ser Ala Pro Pro His Arg Trp Cys Ile Pro Trp Gln
1 5 10 15

Arg Leu Leu Leu Thr Ala Ser Leu Leu Thr Phe Trp Asn Pro Pro Thr
20 25 30

Thr Ala Lys Leu Thr Ile Glu Ser Thr Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly
35 40 45

Lys Glu Val Leu Leu Leu Val His Asn Leu Pro Gln His Leu Phe Gly
50 55 60

Tyr Ser Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Arg Gln Ile Ile
65 70 75 80

Gly Tyr Val Ile Gly Thr Gln Gln Ala Thr Pro Gly Pro Ala Tyr Ser
85 90 95

Gly Arg Glu Ile Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Ile
100 105 110

Ile Gln Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu His Val Ile Lys Ser Asp
115 120 125

Leu Val Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe Arg Val Tyr Pro Glu Leu
130 135 140

Pro Lys Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Lys Pro Val Glu Asp Lys
145 150 155 160

Asp Ala Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Thr Gln Asp Ala Thr Tyr
165 170 175

Leu Trp Trp Val Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln
180 185 190

Leu Ser Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Phe Asn Val Thr Arg Asn
195 200 205

Asp Thr Ala Ser Tyr Lys Cys Glu Thr Gln Asn Pro Val Ser Ala Arg
210 215 220

Arg Ser Asp Ser Val Ile Leu Asn Val Leu Tyr Gly Pro Asp Ala Pro
225 230 235 240

Thr Ile Ser Pro Leu Asn Thr Ser Tyr Arg Ser Gly Glu Asn Leu Asn
245 250 255

Leu Ser Cys His Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser Trp Phe
260 265 270

Val Asn Gly Thr Phe Gln Gln Ser Thr Gln Glu Leu Phe Ile Pro Asn
275 280 285

Ile Thr Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Thr Cys Gln Ala His Asn Ser
290 295 300

Asp Thr Gly Leu Asn Arg Thr Thr Val Thr Thr Ile Thr Val Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Pro Pro Lys Pro Phe Ile Thr Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu
325 330 335

Asp Glu Asp Ala Val Ala Leu Thr Cys Glu Pro Glu Ile Gln Asn Thr
340 345 350

Thr Tyr Leu Trp Trp Val Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg
355 360 365

Leu Gln Leu Ser Asn Asp Asn Arg Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Thr
370 375 380

Arg Asn Asp Val Gly Pro Tyr Glu Cys Gly Ile Gln Asn Lys Leu Ser
385 390 395 400

Val Asp His Ser Asp Pro Val Ile Leu Asn Val Leu Tyr Gly Pro Asp
405 410 415

Asp Pro Thr Ile Ser Pro Ser Tyr Thr Tyr Tyr Arg Pro Gly Val Asn

420 425 430

Leu Ser Leu Ser Cys His Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser
435 440 445

Trp Leu Ile Asp Gly Asn Ile Gln Gln His Thr Gln Glu Leu Phe Ile
450 455 460

Ser Asn Ile Thr Glu Lys Asn Ser Gly Leu Tyr Thr Cys Gln Ala Asn
465 470 475 480

Asn Ser Ala Ser Gly His Ser Arg Thr Thr Val Lys Thr Ile Thr Val
485 490 495

Ser Ala Glu Leu Pro Lys Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Lys Pro
500 505 510

Val Glu Asp Lys Asp Ala Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Ala Gln
515 520 525

Asn Thr Thr Tyr Leu Trp Trp Val Asn Gly Gln Ser Leu Pro Val Ser
530 535 540

Pro Arg Leu Gln Leu Ser Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Phe Asn
545 550 555 560

Val Thr Arg Asn Asp Ala Arg Ala Tyr Val Cys Gly Ile Gln Asn Ser
565 570 575

Val Ser Ala Asn Arg Ser Asp Pro Val Thr Leu Asp Val Leu Tyr Gly
580 585 590

Pro Asp Thr Pro Ile Ile Ser Pro Pro Asp Ser Ser Tyr Leu Ser Gly
595 600 605

Ala Asn Leu Asn Leu Ser Cys His Ser Ala Ser Asn Pro Ser Pro Gln
610 615 620

Tyr Ser Trp Arg Ile Asn Gly Ile Pro Gln Gln His Thr Gln Val Leu
625 630 635 640

Phe Ile Ala Lys Ile Thr Pro Asn Asn Asn Gly Thr Tyr Ala Cys Phe
645 650 655

Val Ser Asn Leu Ala Thr Gly Arg Asn Asn Ser Ile Val Lys Ser Ile
660 665 670

Thr Val Ser Ala Ser Gly Thr Ser Pro Gly Leu Ser Ala Gly Ala Thr
675 680 685

Val Gly Ile Met Ile Gly Val Leu Val Gly Val Ala Leu Ile
690 695 700

<210> 62
<211> 254
<212> PRT
<213> 智人

<400> 62

Met Glu Tyr Ala Ser Asp Ala Ser Leu Asp Pro Glu Ala Pro Trp Pro
1 5 10 15

Pro Ala Pro Arg Ala Arg Ala Cys Arg Val Leu Pro Trp Ala Leu Val
20 25 30

Ala Gly Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala Cys Ala Val Phe
35 40 45

Leu Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser
50 55 60

Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp
65 70 75 80

Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val
85 90 95

Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp
100 105 110

Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu
115 120 125

Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe
130 135 140

Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser
145 150 155 160

Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala
165 170 175

Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala
180 185 190

Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala
195 200 205

Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His
210 215 220

Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val
225 230 235 240

Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
245 250

<210> 63
<211> 205
<212> PRT
<213> 智人

<400> 63

Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala
1 5 10 15

Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro
20 25 30

Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala
35 40 45

Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro
50 55 60

Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp
65 70 75 80

Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe
85 90 95

Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val
100 105 110

Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala
115 120 125

Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg
130 135 140

Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly
145 150 155 160

Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala
165 170 175

Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr
180 185 190

Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
195 200 205

<210> 64
<211> 163
<212> PRT
<213> 智人

<400> 64

Leu Gln Asp Pro Cys Ser Asn Cys Pro Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn
1 5 10 15

Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser
20 25 30

Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val
35 40 45

Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp
50 55 60

Cys Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu
65 70 75 80

Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp
85 90 95

Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro
100 105 110

Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys Ser Val Leu Val Asn Gly Thr
115 120 125

Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro
130 135 140

Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala Pro Ala Arg Glu Pro Gly His
145 150 155 160

Ser Pro Gln

<210> 65
<211> 256
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 65

Met Gly Asn Asn Cys Tyr Asn Val Val Val Ile Val Leu Leu Leu Val
1 5 10 15

Gly Cys Glu Lys Val Gly Ala Val Gln Asn Ser Cys Asp Asn Cys Gln
20 25 30

Pro Gly Thr Phe Cys Arg Lys Tyr Asn Pro Val Cys Lys Ser Cys Pro
35 40 45

Pro Ser Thr Phe Ser Ser Ile Gly Gly Gln Pro Asn Cys Asn Ile Cys
50 55 60

Arg Val Cys Ala Gly Tyr Phe Arg Phe Lys Lys Phe Cys Ser Ser Thr
65 70 75 80

His Asn Ala Glu Cys Glu Cys Ile Glu Gly Phe His Cys Leu Gly Pro
85 90 95

Gln Cys Thr Arg Cys Glu Lys Asp Cys Arg Pro Gly Gln Glu Leu Thr
100 105 110

Lys Gln Gly Cys Lys Thr Cys Ser Leu Gly Thr Phe Asn Asp Gln Asn
115 120 125

Gly Thr Gly Val Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Arg
130 135 140

Ser Val Leu Lys Thr Gly Thr Thr Glu Lys Asp Val Val Cys Gly Pro
145 150 155 160

Pro Val Val Ser Phe Ser Pro Ser Thr Thr Ile Ser Val Thr Pro Glu
165 170 175

Gly Gly Pro Gly Gly His Ser Leu Gln Val Leu Thr Leu Phe Leu Ala
180 185 190

Leu Thr Ser Ala Leu Leu Leu Ala Leu Ile Phe Ile Thr Leu Leu Phe
195 200 205

Ser Val Leu Lys Trp Ile Arg Lys Lys Phe Pro His Ile Phe Lys Gln
210 215 220

Pro Phe Lys Lys Thr Thr Gly Ala Ala Gln Glu Glu Asp Ala Cys Ser
225 230 235 240

Cys Arg Cys Pro Gln Glu Glu Glu Gly Gly Gly Gly Gly Tyr Glu Leu
245 250 255

<210> 66
<211> 254
<212> PRT
<213> 食蟹獼猴

<400> 66

Met Gly Asn Ser Cys Tyr Asn Ile Val Ala Thr Leu Leu Leu Val Leu
1 5 10 15

Asn Phe Glu Arg Thr Arg Ser Leu Gln Asp Leu Cys Ser Asn Cys Pro
20 25 30

Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn Asn Arg Ser Gln Ile Cys Ser Pro Cys
35 40 45

Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile
50 55 60

Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val Phe Lys Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser
65 70 75 80

Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp Cys Ile Ser Gly Tyr His Cys Leu Gly
85 90 95

Ala Glu Cys Ser Met Cys Glu Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu
100 105 110

Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln
115 120 125

Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys
130 135 140

Ser Val Leu Val Asn Gly Thr Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro
145 150 155 160

Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro Gly Ala Ser Ser Ala Thr Pro Pro Ala
165 170 175

Pro Ala Arg Glu Pro Gly His Ser Pro Gln Ile Ile Phe Phe Leu Ala
180 185 190

Leu Thr Ser Thr Val Val Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Val Leu Arg
195 200 205

Phe Ser Val Val Lys Arg Ser Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
210 215 220

Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
225 230 235 240

Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
245 250

<210> 67
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> G4S肽連接子

<400> 67

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 68
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> (G4S)2

<400> 68

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 69
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> (SG4)2

<400> 69

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10

<210> 70
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子

<400> 70

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10

<210> 71
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子

<400> 71

Gly Ser Pro Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ser
1 5 10

<210> 72
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子2

<400> 72

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 73
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子3

<400> 73

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 74
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子4

<400> 74

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5

<210> 75
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子5

<400> 75

Gly Ser Gly Ser Gly Asn Gly Ser
1 5

<210> 76
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子6

<400> 76

Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1 5

<210> 77
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子7

<400> 77

Gly Gly Ser Gly Ser Gly
1 5

<210> 78
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子8

<400> 78

Gly Gly Ser Gly
1

<210> 79
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子9

<400> 79

Gly Gly Ser Gly Asn Gly Ser Gly
1 5

<210> 80
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子10

<400> 80

Gly Gly Asn Gly Ser Gly Ser Gly
1 5

<210> 81
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接子11

<400> 81

Gly Gly Asn Gly Ser Gly

1 5

<210> 82
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CEACAM5 Fc片鏈

<400> 82

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Ser Lys Tyr Val Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Pro Phe Gly Tyr Tyr Val Ser Asp Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 83
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CEACAM5輕鏈

<400> 83

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Gly Glu Ser Val Asp Ile Phe
20 25 30

Gly Val Gly Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 84
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DP47輕鏈

<400> 84

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 85
<211> 297
<212> PRT
<213> 智人

<400> 85

Met Thr Thr Pro Arg Asn Ser Val Asn Gly Thr Phe Pro Ala Glu Pro
1 5 10 15

Met Lys Gly Pro Ile Ala Met Gln Ser Gly Pro Lys Pro Leu Phe Arg
20 25 30

Arg Met Ser Ser Leu Val Gly Pro Thr Gln Ser Phe Phe Met Arg Glu
35 40 45

Ser Lys Thr Leu Gly Ala Val Gln Ile Met Asn Gly Leu Phe His Ile
50 55 60

Ala Leu Gly Gly Leu Leu Met Ile Pro Ala Gly Ile Tyr Ala Pro Ile
65 70 75 80

Cys Val Thr Val Trp Tyr Pro Leu Trp Gly Gly Ile Met Tyr Ile Ile
85 90 95

Ser Gly Ser Leu Leu Ala Ala Thr Glu Lys Asn Ser Arg Lys Cys Leu
100 105 110

Val Lys Gly Lys Met Ile Met Asn Ser Leu Ser Leu Phe Ala Ala Ile
115 120 125

Ser Gly Met Ile Leu Ser Ile Met Asp Ile Leu Asn Ile Lys Ile Ser
130 135 140

His Phe Leu Lys Met Glu Ser Leu Asn Phe Ile Arg Ala His Thr Pro
145 150 155 160

Tyr Ile Asn Ile Tyr Asn Cys Glu Pro Ala Asn Pro Ser Glu Lys Asn
165 170 175

Ser Pro Ser Thr Gln Tyr Cys Tyr Ser Ile Gln Ser Leu Phe Leu Gly
180 185 190

Ile Leu Ser Val Met Leu Ile Phe Ala Phe Phe Gln Glu Leu Val Ile
195 200 205

Ala Gly Ile Val Glu Asn Glu Trp Lys Arg Thr Cys Ser Arg Pro Lys
210 215 220

Ser Asn Ile Val Leu Leu Ser Ala Glu Glu Lys Lys Glu Gln Thr Ile
225 230 235 240

Glu Ile Lys Glu Glu Val Val Gly Leu Thr Glu Thr Ser Ser Gln Pro
245 250 255

Lys Asn Glu Glu Asp Ile Glu Ile Ile Pro Ile Gln Glu Glu Glu Glu
260 265 270

Glu Glu Thr Glu Thr Asn Phe Pro Glu Pro Pro Gln Asp Gln Glu Ser
275 280 285

Ser Pro Ile Glu Asn Asp Ser Ser Pro
290 295

<210> 86
<211> 766
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> [illegible]-mu4-1BBL-CL Fc柱鏈

<400> 86

Arg Thr Glu Pro Arg Pro Ala Leu Thr Ile Thr Thr Ser Pro Asn Leu
1 5 10 15

Gly Thr Arg Glu Asn Asn Ala Asp Gln Val Thr Pro Val Ser His Ile
20 25 30

Gly Cys Pro Asn Thr Thr Gln Gln Gly Ser Pro Val Phe Ala Lys Leu
35 40 45

Leu Ala Lys Asn Gln Ala Ser Leu Ser Asn Thr Thr Leu Asn Trp His
50 55 60

Ser Gln Asp Gly Ala Gly Ser Ser Tyr Leu Ser Gln Gly Leu Arg Tyr
65 70 75 80

Glu Glu Asp Lys Lys Glu Leu Val Val Asp Ser Pro Gly Leu Tyr Tyr
85 90 95

Val Phe Leu Glu Leu Lys Leu Ser Pro Thr Phe Thr Asn Thr Gly His
100 105 110

Lys Val Gln Gly Trp Val Ser Leu Val Leu Gln Ala Lys Pro Gln Val
115 120 125

Asp Asp Phe Asp Asn Leu Ala Leu Thr Val Glu Leu Phe Pro Cys Ser
130 135 140

Met Glu Asn Lys Leu Val Asp Arg Ser Trp Ser Gln Leu Leu Leu Leu
145 150 155 160

Lys Ala Gly His Arg Leu Ser Val Gly Leu Arg Ala Tyr Leu His Gly
165 170 175

Ala Gln Asp Ala Tyr Arg Asp Trp Glu Leu Ser Tyr Pro Asn Thr Thr
180 185 190

Ser Phe Gly Leu Phe Leu Val Lys Pro Asp Asn Pro Trp Glu Gly Gly
195 200 205

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg Thr Glu Pro Arg Pro Ala Leu
210 215 220

Thr Ile Thr Thr Ser Pro Asn Leu Gly Thr Arg Glu Asn Asn Ala Asp
225 230 235 240

Gln Val Thr Pro Val Ser His Ile Gly Cys Pro Asn Thr Thr Gln Gln
245 250 255

Gly Ser Pro Val Phe Ala Lys Leu Leu Ala Lys Asn Gln Ala Ser Leu
260 265 270

Ser Asn Thr Thr Leu Asn Trp His Ser Gln Asp Gly Ala Gly Ser Ser
275 280 285

Tyr Leu Ser Gln Gly Leu Arg Tyr Glu Glu Asp Lys Lys Glu Leu Val
290 295 300

Val Asp Ser Pro Gly Leu Tyr Tyr Val Phe Leu Glu Leu Lys Leu Ser
305 310 315 320

Pro Thr Phe Thr Asn Thr Gly His Lys Val Gln Gly Trp Val Ser Leu
325 330 335

Val Leu Gln Ala Lys Pro Gln Val Asp Asp Phe Asp Asn Leu Ala Leu
340 345 350

Thr Val Glu Leu Phe Pro Cys Ser Met Glu Asn Lys Leu Val Asp Arg
355 360 365

Ser Trp Ser Gln Leu Leu Leu Leu Lys Ala Gly His Arg Leu Ser Val
370 375 380

Gly Leu Arg Ala Tyr Leu His Gly Ala Gln Asp Ala Tyr Arg Asp Trp
385 390 395 400

Glu Leu Ser Tyr Pro Asn Thr Thr Ser Phe Gly Leu Phe Leu Val Lys
405 410 415

Pro Asp Asn Pro Trp Glu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
420 425 430

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg
435 440 445

Lys Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
450 455 460

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
465 470 475 480

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
485 490 495

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
500 505 510

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
515 520 525

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Asp Lys Thr His Thr
530 535 540

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
545 550 555 560

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

565 570 575

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
580 585 590

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
595 600 605

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
610 615 620

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
625 630 635 640

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
645 650 655

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
660 665 670

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
675 680 685

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
690 695 700

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
705 710 715 720

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
725 730 735

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
740 745 750

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
755 760 765

<210> 87
<211> 319
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽-mu4-1BBL-CH1鏈

<400> 87

Arg Thr Glu Pro Arg Pro Ala Leu Thr Ile Thr Thr Ser Pro Asn Leu
1 5 10 15

Gly Thr Arg Glu Asn Asn Ala Asp Gln Val Thr Pro Val Ser His Ile
20 25 30

Gly Cys Pro Asn Thr Thr Gln Gln Gly Ser Pro Val Phe Ala Lys Leu
35 40 45

Leu Ala Lys Asn Gln Ala Ser Leu Ser Asn Thr Thr Leu Asn Trp His
50 55 60

Ser Gln Asp Gly Ala Gly Ser Ser Tyr Leu Ser Gln Gly Leu Arg Tyr
65 70 75 80

Glu Glu Asp Lys Lys Glu Leu Val Val Asp Ser Pro Gly Leu Tyr Tyr
85 90 95

Val Phe Leu Glu Leu Lys Leu Ser Pro Thr Phe Thr Asn Thr Gly His
100 105 110

Lys Val Gln Gly Trp Val Ser Leu Val Leu Gln Ala Lys Pro Gln Val
115 120 125

Asp Asp Phe Asp Asn Leu Ala Leu Thr Val Glu Leu Phe Pro Cys Ser
130 135 140

Met Glu Asn Lys Leu Val Asp Arg Ser Trp Ser Gln Leu Leu Leu Leu
145 150 155 160

Lys Ala Gly His Arg Leu Ser Val Gly Leu Arg Ala Tyr Leu His Gly
165 170 175

Ala Gln Asp Ala Tyr Arg Asp Trp Glu Leu Ser Tyr Pro Asn Thr Thr
180 185 190

Ser Phe Gly Leu Phe Leu Val Lys Pro Asp Asn Pro Trp Glu Gly Gly

195 200 205

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
210 215 220

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
225 230 235 240

Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
245 250 255

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
260 265 270

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
275 280 285

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
290 295 300

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
305 310 315

<210> 88
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (4B9) Fc鏈

<400> 88

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 89
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VLCL(4B9)輕鏈

<400> 89

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 90

<211> 571
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (MU137-1)-重鏈Fc-DD-VL (28H1)

<400> 90

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Tyr Phe
20 25 30

Asp Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Pro Ser Gly Asp Ile Pro Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Glu Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Glu Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val
115 120 125

Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
195 200 205

Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys
210 215 220

Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270

Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Ile Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro
290 295 300

Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val
305 310 315 320

Asn Ser Ala Ala Phe Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
325 330 335

Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys
340 345 350

Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asn
355 360 365

Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Ala Glu Asn Tyr Asp Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser
385 390 395 400

Tyr Phe Val Tyr Ser Asp Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala

405 410 415

Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His
420 425 430

His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser
435 440 445

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
450 455 460

Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu
465 470 475 480

Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser Tyr
485 490 495

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
500 505 510

Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
515 520 525

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
530 535 540

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro Pro
545 550 555 560

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
565 570

<210> 91
<211> 579
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (20H4.9)-重鏈Fc-KK-VH (28H1)

<400> 91

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Tyr Phe
20 25 30

Asp Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Pro Ser Gly Asp Ile Pro Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Glu Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Glu Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val
115 120 125

Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
195 200 205

Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys
210 215 220

Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe

225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270

Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Ile Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro
290 295 300

Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val
305 310 315 320

Asn Ser Ala Ala Phe Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
325 330 335

Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys
340 345 350

Lys Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asn
355 360 365

Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Lys Thr Asp Gly Ser
385 390 395 400

Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala
405 410 415

Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His
420 425 430

His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser
435 440 445

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
450 455 460

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
465 470 475 480

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Ala
485 490 495

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
500 505 510

Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
515 520 525

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
530 535 540

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys
545 550 555 560

Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
565 570 575

Val Ser Ser

<210> 92
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VLCL-輕鏈(MU137-1)

<400> 92

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Leu Glu
1 5 10 15

Glu Ile Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Gly Thr Ser Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Ser Ser Gly Ser Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Val
65 70 75 80

Glu Asp Ile Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Ala Tyr Gly Ala Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 93
<211> 579
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (MU137-1)-重鏈Fc-DD-VH (28H1)

<400> 93

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Tyr Phe
20 25 30

Asp Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Pro Ser Gly Asp Ile Pro Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Glu Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Glu Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val
115 120 125

Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
195 200 205

Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys

210 215 220

Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270

Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Ile Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro
290 295 300

Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val
305 310 315 320

Asn Ser Ala Ala Phe Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
325 330 335

Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys
340 345 350

Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asn
355 360 365

Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Ala Glu Asn Tyr Asp Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser
385 390 395 400

Tyr Phe Val Tyr Ser Asp Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala
405 410 415

Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His
420 425 430

His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser
435 440 445

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
450 455 460

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
465 470 475 480

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Ala
485 490 495

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
500 505 510

Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
515 520 525

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
530 535 540

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys
545 550 555 560

Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
565 570 575

Val Ser Ser

<210> 94
<211> 571
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VHCH1 (MU137-1)-重鏈Fc-KK-VL (28H1)

<400> 94

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Tyr Phe

20 25 30

Asp Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Pro Ser Gly Asp Ile Pro Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Glu Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Glu Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val
115 120 125

Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala
195 200 205

Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys
210 215 220

Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Ala Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270

Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Ile Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro
290 295 300

Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val
305 310 315 320

Asn Ser Ala Ala Phe Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
325 330 335

Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys
340 345 350

Lys Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asn
355 360 365

Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Lys Thr Asp Gly Ser
385 390 395 400

Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala
405 410 415

Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His
420 425 430

His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser
435 440 445

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
450 455 460

Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu
465 470 475 480

Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser Tyr
485 490 495

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
500 505 510

Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
515 520 525

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
530 535 540

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro Pro
545 550 555 560

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
565 570

<210> 95
<211> 1245
<212> PRT
<213> 智人

<400> 95

Met Glu Leu Ala Ala Leu Cys Arg Trp Gly Leu Leu Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15

Pro Pro Gly Ala Ala Ser Thr Gln Val Cys Thr Gly Thr Asp Met Lys
20 25 30

Leu Arg Leu Pro Ala Ser Pro Glu Thr His Leu Asp Met Leu Arg His
35 40 45

Leu Tyr Gln Gly Cys Gln Val Val Gln Gly Asn Leu Glu Leu Thr Tyr
50 55 60

Leu Pro Thr Asn Ala Ser Leu Ser Phe Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val
65 70 75 80

Gln Gly Tyr Val Leu Ile Ala His Asn Gln Val Arg Gln Val Pro Leu
85 90 95

Gln Arg Leu Arg Ile Val Arg Gly Thr Gln Leu Phe Glu Asp Asn Tyr
100 105 110

Ala Leu Ala Val Leu Asp Asn Gly Asp Pro Leu Asn Asn Thr Thr Pro
115 120 125

Val Thr Gly Ala Ser Pro Gly Gly Leu Arg Glu Leu Gln Leu Arg Ser
130 135 140

Leu Thr Glu Ile Leu Lys Gly Gly Val Leu Ile Gln Arg Asn Pro Gln
145 150 155 160

Leu Cys Tyr Gln Asp Thr Ile Leu Trp Lys Asp Ile Phe His Lys Asn
165 170 175

Asn Gln Leu Ala Leu Thr Leu Ile Asp Thr Asn Arg Ser Arg Ala Cys
180 185 190

His Pro Cys Ser Pro Met Cys Lys Gly Ser Arg Cys Trp Gly Glu Ser
195 200 205

Ser Glu Asp Cys Gln Ser Leu Thr Arg Thr Val Cys Ala Gly Gly Cys
210 215 220

Ala Arg Cys Lys Gly Pro Leu Pro Thr Asp Cys Cys His Glu Gln Cys
225 230 235 240

Ala Ala Gly Cys Thr Gly Pro Lys His Ser Asp Cys Leu Ala Cys Leu
245 250 255

His Phe Asn His Ser Gly Ile Cys Glu Leu His Cys Pro Ala Leu Val
260 265 270

Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Phe Glu Ser Met Pro Asn Pro Glu Gly Arg
275 280 285

Tyr Thr Phe Gly Ala Ser Cys Val Thr Ala Cys Pro Tyr Asn Tyr Leu
290 295 300

Ser Thr Asp Val Gly Ser Cys Thr Leu Val Cys Pro Leu His Asn Gln
305 310 315 320

Glu Val Thr Ala Glu Asp Gly Thr Gln Arg Cys Glu Lys Cys Ser Lys
325 330 335

Pro Cys Ala Arg Val Cys Tyr Gly Leu Gly Met Glu His Leu Arg Glu
340 345 350

Val Arg Ala Val Thr Ser Ala Asn Ile Gln Glu Phe Ala Gly Cys Lys
355 360 365

Lys Ile Phe Gly Ser Leu Ala Phe Leu Pro Glu Ser Phe Asp Gly Asp
370 375 380

Pro Ala Ser Asn Thr Ala Glu Thr Leu Glu Glu Ile Thr Gly Tyr Leu
385 390 395 400

Tyr Ile Ser Ala Trp Pro Asp Ser Leu Pro Asp Leu Ser Val Phe Gln
405 410 415

Asn Leu Gln Val Ile Arg Gly Arg Ile Leu His Asn Gly Ala Tyr Ser
420 425 430

Leu Thr Leu Gln Gly Leu Gly Ile Ser Trp Leu Gly Leu Arg Ser Leu
435 440 445

Arg Glu Leu Gly Ser Gly Leu Ala Leu Ile His His Asn Thr His Leu
450 455 460

Cys Phe Val His Thr Val Pro Trp Asp Gln Leu Phe Arg Asn Pro His
465 470 475 480

Gln Ala Leu Leu His Thr Ala Asn Arg Pro Glu Asp Glu Cys Val Gly
485 490 495

Glu Gly Leu Ala Cys His Gln Leu Cys Ala Arg Gly His Cys Trp Gly
500 505 510

Pro Gly Pro Thr Gln Cys Val Asn Cys Ser Gln Phe Leu Arg Gly Gln

515 520 525

Glu Cys Val Glu Glu Cys Arg Val Leu Gln Gly Leu Pro Arg Glu Tyr
530 535 540

Val Asn Ala Arg His Cys Leu Pro Cys His Pro Glu Cys Gln Pro Gln
545 550 555 560

Asn Gly Ser Val Thr Cys Phe Gly Pro Glu Ala Asp Gln Cys Val Ala
565 570 575

Cys Ala His Tyr Lys Asp Pro Pro Phe Cys Val Ala Arg Cys Pro Ser
580 585 590

Gly Val Lys Pro Asp Leu Ser Tyr Met Pro Ile Trp Lys Phe Pro Asp
595 600 605

Glu Glu Gly Ala Cys Gln Pro Cys Pro Ile Asn Cys Thr His Ser Cys
610 615 620

Val Asp Leu Asp Asp Lys Gly Cys Pro Ala Glu Gln Arg Ala Ser Pro
625 630 635 640

Leu Thr Ser Ile Ile Ser Ala Val Val Gly Ile Leu Leu Val Val Val
645 650 655

Leu Gly Val Val Phe Gly Ile Leu Ile Lys Arg Arg Gln Gln Lys Ile
660 665 670

Arg Lys Tyr Thr Met Arg Arg Leu Leu Gln Glu Thr Glu Leu Val Glu
675 680 685

Pro Leu Thr Pro Ser Gly Ala Met Pro Asn Gln Ala Gln Met Arg Ile
690 695 700

Leu Lys Glu Thr Glu Leu Arg Lys Val Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala
705 710 715 720

Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Ile Trp Ile Pro Asp Gly Glu Asn Val
725 730 735

Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Val Leu Arg Glu Asn Thr Ser Pro Lys
740 745 750

Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Gly Val Gly
755 760 765

Ser Pro Tyr Val Ser Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser Thr Val
770 775 780

Gln Leu Val Thr Gln Leu Met Pro Tyr Gly Cys Leu Leu Asp His Val
785 790 795 800

Arg Glu Asn Arg Gly Arg Leu Gly Ser Gln Asp Leu Leu Asn Trp Cys
805 810 815

Met Gln Ile Ala Lys Gly Met Ser Tyr Leu Glu Asp Val Arg Leu Val
820 825 830

His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Lys Ser Pro Asn His
835 840 845

Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Arg Leu Leu Asp Ile Asp Glu
850 855 860

Thr Glu Tyr His Ala Asp Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp Met Ala
865 870 875 880

Leu Glu Ser Ile Leu Arg Arg Arg Phe Thr His Gln Ser Asp Val Trp
885 890 895

Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ala Lys Pro
900 905 910

Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Arg Glu Ile Pro Asp Leu Leu Glu Lys Gly
915 920 925

Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr Met Ile
930 935 940

Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ser Glu Cys Arg Pro Arg Phe Arg
945 950 955 960

Glu Leu Val Ser Glu Phe Ser Arg Met Ala Arg Asp Pro Gln Arg Phe
965 970 975

Val Val Ile Gln Asn Glu Asp Leu Gly Pro Ala Ser Pro Leu Asp Ser
980 985 990

Thr Phe Tyr Arg Ser Leu Leu Glu Asp Asp Asp Met Gly Asp Leu Val
995 1000 1005

Asp Ala Glu Glu Tyr Leu Val Pro Gln Gln Gly Phe Phe Cys Pro
1010 1015 1020

Asp Pro Ala Pro Gly Ala Gly Gly Met Val His His Arg His Arg
1025 1030 1035

Ser Ser Ser Thr Arg Ser Gly Gly Gly Asp Leu Thr Leu Gly Leu
1040 1045 1050

Glu Pro Ser Glu Glu Glu Ala Pro Arg Ser Pro Leu Ala Pro Ser
1055 1060 1065

Glu Gly Ala Gly Ser Asp Val Phe Asp Gly Asp Leu Gly Met Gly
1070 1075 1080

Ala Ala Lys Gly Leu Gln Ser Leu Pro Thr His Asp Pro Ser Pro
1085 1090 1095

Leu Gln Arg Tyr Ser Glu Asp Pro Thr Val Pro Leu Pro Ser Glu
1100 1105 1110

Thr Asp Gly Tyr Val Ala Pro Leu Thr Cys Ser Pro Gln Pro Glu
1115 1120 1125

Tyr Val Asn Gln Pro Asp Val Arg Pro Gln Pro Pro Ser Pro Arg
1130 1135 1140

Glu Gly Pro Leu Pro Ala Ala Arg Pro Ala Gly Ala Thr Leu Glu
1145 1150 1155

Arg Pro Lys Thr Leu Ser Pro Gly Lys Asn Gly Val Val Lys Asp
1160 1165 1170

Val Phe Ala Phe Gly Gly Ala Val Glu Asn Pro Glu Tyr Leu Thr
1175 1180 1185

Pro Gln Gly Gly Ala Ala Pro Gln Pro His Pro Pro Pro Ala Phe
1190 1195 1200

Ser Pro Ala Phe Asp Asn Leu Tyr Tyr Trp Asp Gln Asp Pro Pro
1205 1210 1215

Glu Arg Gly Ala Pro Pro Ser Thr Phe Lys Gly Thr Pro Thr Ala
1220 1225 1230

Glu Asn Pro Glu Tyr Leu Gly Leu Asp Val Pro Val
1235 1240 1245

<210> 96
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH曲妥珠單抗

<400> 96

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 97
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VL曲妥珠單抗

<400> 97

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 98
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH帕妥珠單抗

<400> 98

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 99
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VL帕妥珠單抗

<400> 99

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種4-1BB (CD137)促效劑之用途，其係用以製備用於治療HER-2陽性癌症或延遲HER-2陽性癌症之進展之藥物，其中該4-1BB (CD137)促效劑與曲妥珠單抗(trastuzumab)組合使用，且其中該4-1BB促效劑為包含能夠與纖維母細胞活化蛋白(FAP)特異性結合的至少一個抗原結合域、包含選自由SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8組成之群之胺基酸序列的三個4-1BBL胞外域及包含胺基酸取代L234A、L235A及P329G（EU編號系統）之IgG1 Fc域的抗原結合分子。

【第2項】

如請求項1之用途，其中該4-1BB促效劑為包含三個4-1BBL胞外域之分子，該等4-1BBL胞外域包含SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 5之胺基酸序列。

【第3項】

如請求項1之用途，其中能夠與FAP特異性結合之抗原結合域包含

(a)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列，或

(b)重鏈可變區(V_HFAP)，其包含：(i) CDR-H1，其包含SEQ ID NO:

15之胺基酸序列，(ii) CDR-H2，其包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列，及(iii) CDR-H3，其包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列；及輕鏈可變區(V_LFAP)，其包含：(iv) CDR-L1，其包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列，(v) CDR-L2，其包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列，及(vi) CDR-L3，其包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。

【第4項】

如請求項1之用途，其中能夠與腫瘤相關抗原特異性結合之該抗原結合域為能夠與FAP特異性結合的抗原結合域，該抗原結合域包含含有SEQ ID NO: 21之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，或其中能夠與FAP特異性結合的該抗原結合域包含含有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)。

【第5項】

如請求項1之用途，其中該4-1BB促效劑為包含以下之抗原結合分子：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個抗原結合域，

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該第一多肽包含藉由肽連接子彼此連接的兩個4-1BBL胞外域或其片段，且其中該第二多肽包含一個4-1BBL胞外域或其片段。

【第6項】

如請求項1之用途，其中該4-1BB促效劑為包含以下之抗原結合分子：

(a)能夠與FAP特異性結合之至少一個Fab域，該至少一個Fab域包

含：含有SEQ ID NO: 21之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，或含有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的重鏈可變區(V_HFAP)及含有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的輕鏈可變區(V_LFAP)，及

(b)第一及第二多肽，其藉由二硫鍵彼此連接，

其中該抗原結合分子的第一多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31及SEQ ID NO: 32，且第二多肽包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8。

【第7項】

如請求項1之用途，其中該4-1BB促效劑為包含以下之抗原結合分子：第一重鏈，其包含SEQ ID NO: 41之胺基酸序列；第一輕鏈，其包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列；第二重鏈，其包含SEQ ID NO: 43之胺基酸序列；及第二輕鏈，其包含SEQ ID NO: 44之胺基酸序列。

【第8項】

如請求項1至7中任一項之用途，其中該4-1BB促效劑及曲妥珠單抗以單一組合物形式一起投與，或以兩種或更多種不同組合物形式分開投與。

【第9項】

如請求項1至7中任一項之用途，其中該4-1BB促效劑與曲妥珠單抗協同作用。

【第10項】

一種醫藥產品，其包含：(A)第一組合物，其包含作為活性成分之4-1BB (CD137)促效劑及醫藥學上可接受之載劑，其中該4-1BB促效劑為包含能夠與纖維母細胞活化蛋白(FAP)特異性結合的至少一個抗原結合域、包含選自由SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8組成之群之胺基酸序列的三個4-1BBL胞外域及包含胺基酸取代L234A、L235A及P329G（EU編號系統）之IgG1 Fc域的抗原結合分子；及(B)第二組合物，其包含作為活性成分之曲妥珠單抗及醫藥學上可接受之載劑，該等組合物組合、依序或同時使用以治療疾病。

【第11項】

如請求項10之醫藥產品，其中該疾病為HER-2陽性癌症。

【第12項】

一種醫藥組合物，其包含4-1BB促效劑及曲妥珠單抗，其中該4-1BB促效劑為包含能夠與纖維母細胞活化蛋白(FAP)特異性結合的至少一個抗原結合域、包含選自由SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8組成之群之胺基酸序列的三個4-1BBL胞外域及包含胺基酸取代L234A、L235A及P329G（EU編號系統）之IgG1 Fc域的抗原結合分子。

【第13項】

一種4-1BB促效劑及曲妥珠單抗之組合之用途，其用於製造用於治療HER-2陽性癌症或延遲HER-2陽性癌症之進展的藥物，其中該4-1BB促效劑為包含能夠與纖維母細胞活化蛋白(FAP)特異性結合的至少一個抗原結

合域、包含選自由SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7及SEQ ID NO: 8組成之群之胺基酸序列的三個4-1BBL胞外域及包含胺基酸取代L234A、L235A及P329G（EU編號系統）之IgG1 Fc域的抗原結合分子。

【第14項】

如請求項13之用途，其中該4-1BB促效劑及曲妥珠單抗係以兩種或更多種不同組合物形式分開投與。

【第15項】

如請求項13之用途，其中該4-1BB促效劑及曲妥珠單抗係靜脈內或皮下投與。

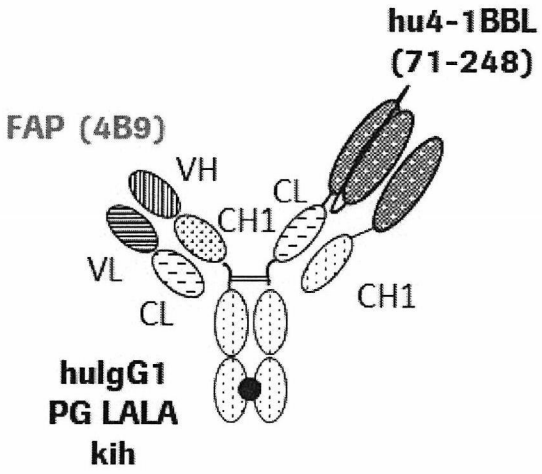
【第16項】

如請求項13之用途，其中該4-1BB促效劑係與曲妥珠單抗同時、在其之前或之後投與。

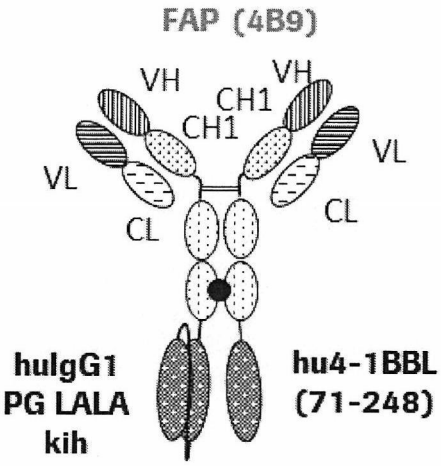
【第17項】

如請求項13至16中任一項之用途，其中該HER-2陽性癌症為乳癌、卵巢癌、胃癌(stomach cancer)、胃癌(gastric cancer)、食道癌、肺癌、子宮癌、唾液管癌、膀胱癌、子宮內膜癌、胰臟癌、結腸癌、前列腺癌及/或頭頸癌。

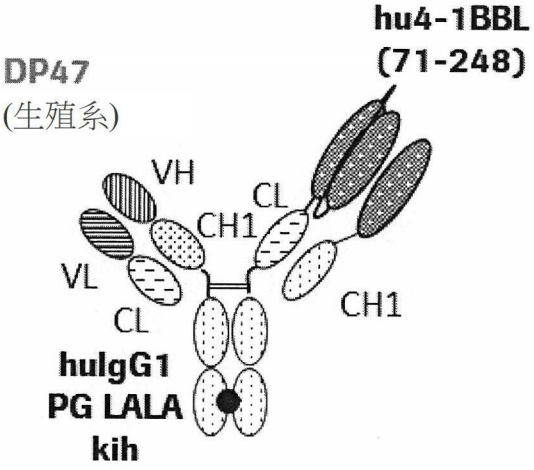
【發明圖式】



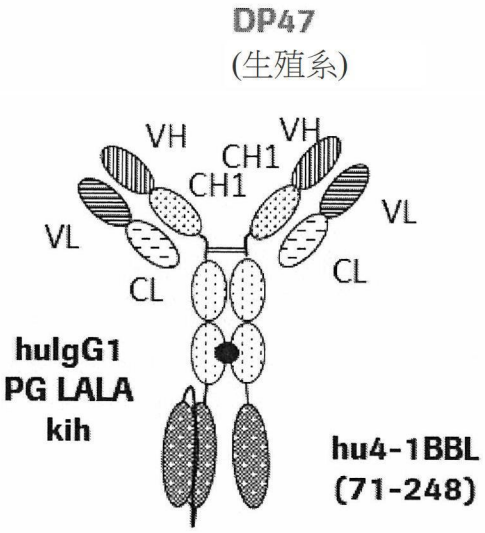
【圖1A】



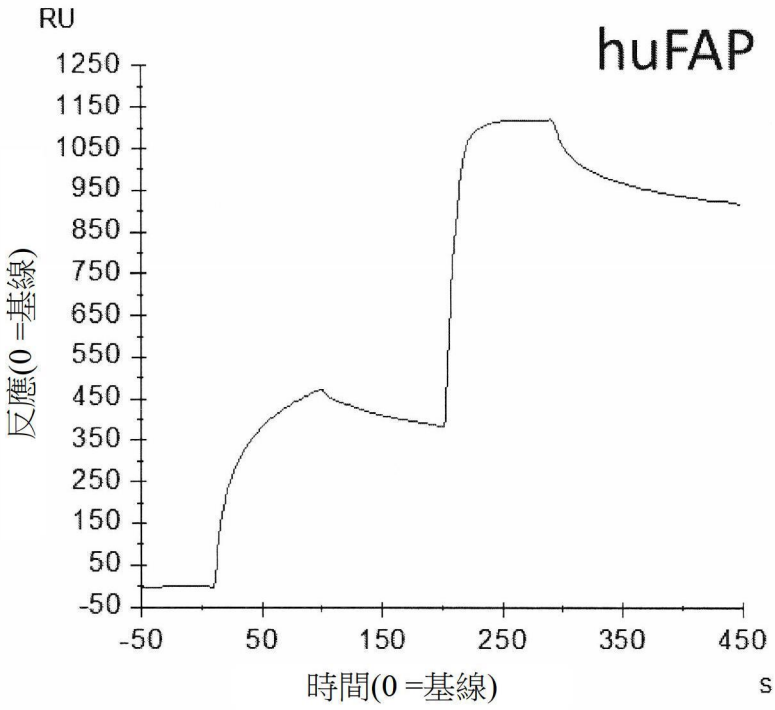
【圖1B】



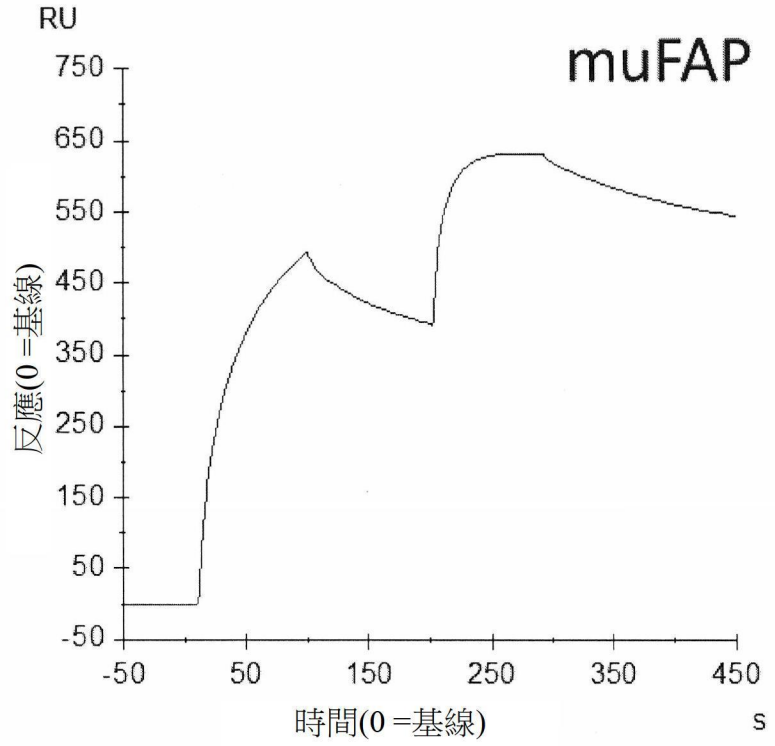
【圖1C】



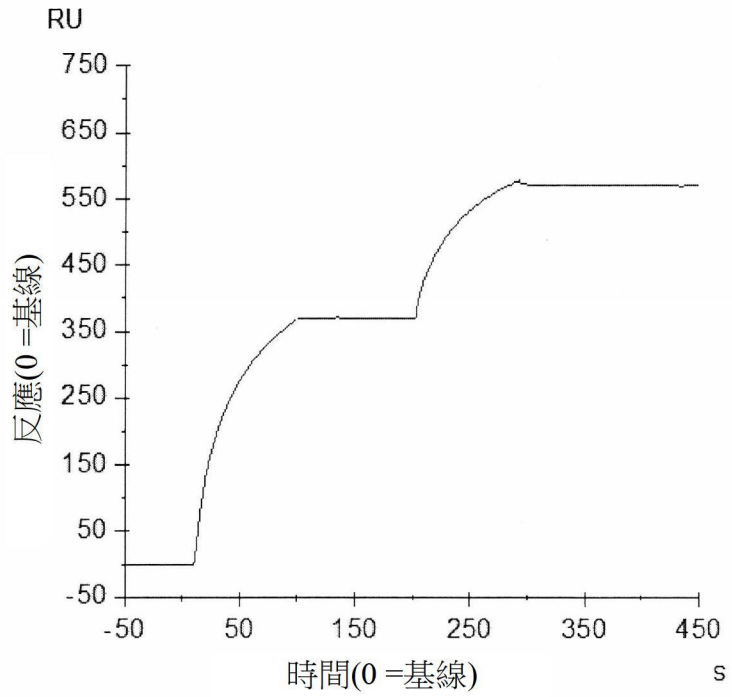
【圖1D】


RU
huFAP
1250
1150
1050
950
850
750
650
550
450
350
250
150
50
-50
反應(0 =基線)
-50
50
150
250
350
450
時間(0 =基線)
s

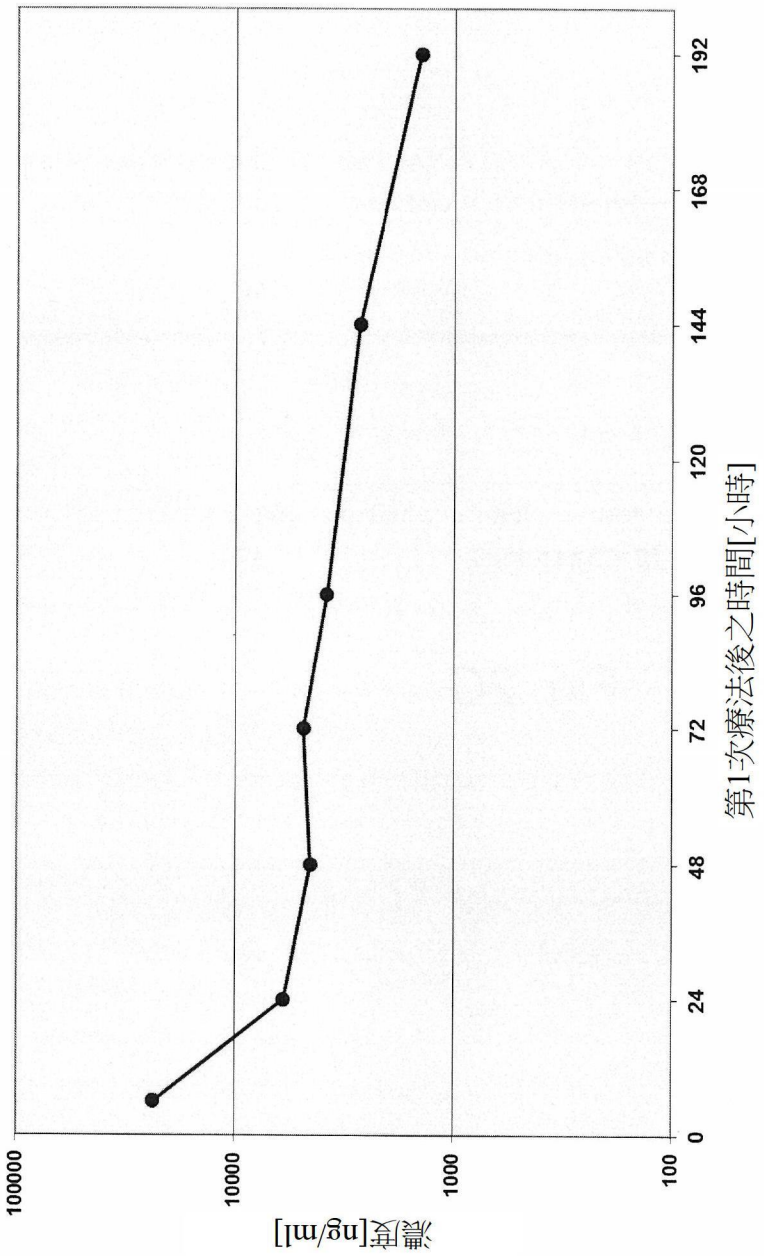
【圖2A】


RU
muFAP
750
650
550
450
350
250
150
50
-50
反應(0 =基線)
-50
50
150
250
350
450
時間(0 =基線)
s

【圖2B】

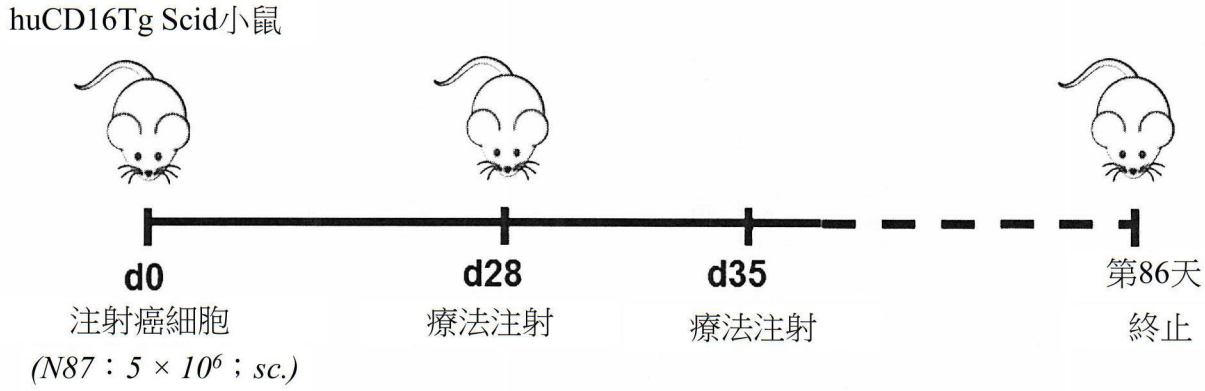

RU
750
650
550
450
350
250
150
50
-50
反應(0 =基線)
-50
50
150
250
350
450
時間(0 =基線)
s

【圖2C】


濃度[ng/ml]
100000
10000
1000
100
0
24
48
72
96
120
144
168
192
第1次療法後之時間[小時]

【圖3】

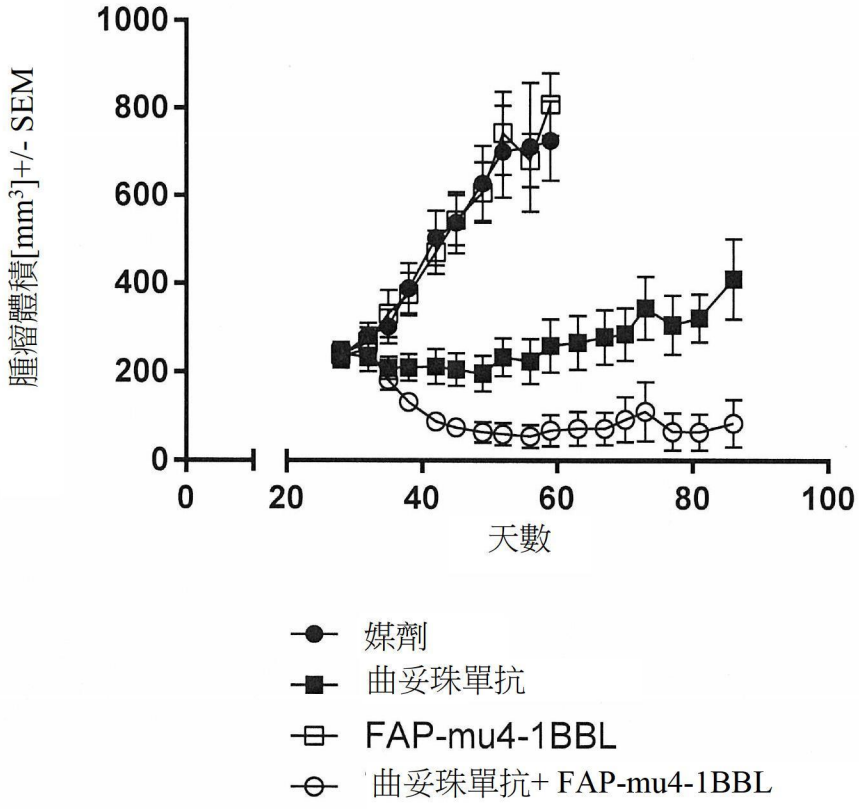
C21916IDA.pdf
108107979
表單編號 A0202



【圖4A】

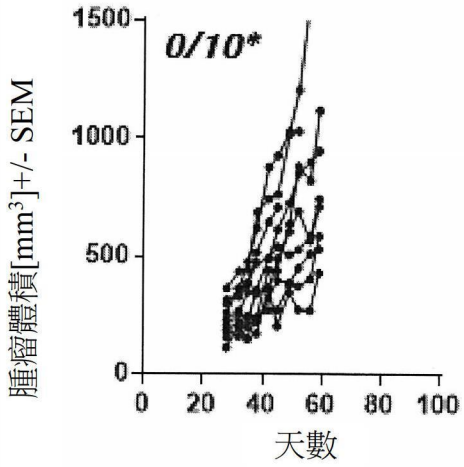
組	動物之數目	化合物	劑量 (mg/kg)	投藥途徑 (療法)	處理之數目
A	10	媒劑	--	i.v.	8次(每週一次)
B	10	曲妥珠單抗	10	i.v.	8次(每週一次)
C	10	FAP-mu4-1BBL	3	i.v.	8次(每週一次)
D	10	曲妥珠單抗+ FAP-mu4-1BBL	10 / 3	i.v.	8次(每週一次)

【圖4B】


腫瘤體積[mm3]+/- SEM
1000
800
600
400
200
0
0
20
40
60
80
100
天數
媒劑
曲妥珠單抗
FAP-mu4-1BBL
曲妥珠單抗+ FAP-mu4-1BBL

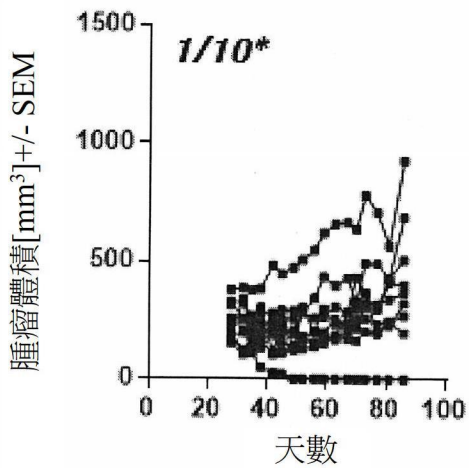
【圖5A】

媒劑



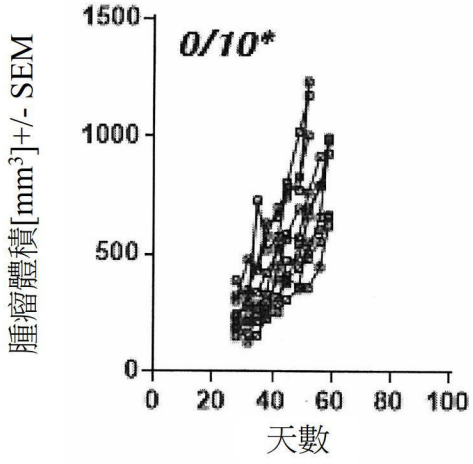
【圖5B】

曲妥珠單抗



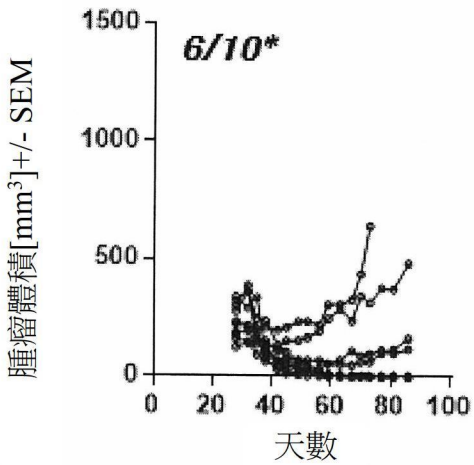
【圖5C】

FAP-mu4-1BBL



【圖5D】

曲妥珠單抗+ FAP-mu4-1BBL



*: 在研究終止時之無腫瘤小鼠

【圖5E】